

Estudo do parasitismo gastrintestinal de três núcleos de Equídeos na Coudelaria de Alter Real – Portugal

Filinto Elmano de Branco e Brito Girão Osório

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica - Produção Animal

Orientador: Doutora Maria do Mar Jácome Felix Oom

Co-orientadores: Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Júri

Presidente - Doutor Rui Manuel Vasconcelos Horta Caldeira, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais- Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;
- Doutora Maria do Mar Jácome Felix Oom, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;
- Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;
- Doutor Fernando Baltazar Santos Ortega, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2011

Resumo

A crescente procura de equídeos como animais de desporto e companhia, torna necessário o conhecimento dos factores condicionantes da sua produção. Neste estudo foram abordados animais criados em regime extensivo na Coudelaria de Alter do Chão, com o objectivo de caracterizar o seu parasitismo gastrointestinal de acordo com factores que o possam condicionar como a raça/espécie, idade, a consanguinidade das populações, disponibilidade de erva e a sua evolução sazonal.

Foram estudados equídeos de duas espécies: *Equus ferus* spp. *przewalskii* e *E. caballus* (raças Sorraia e Lusitana). Procedeu-se a colheitas mensais de fezes ao longo de um ano, totalizando 20 amostras fecais por mês dos seguintes animais: 10 Lusitanos, 7 Sorraias e 3 Przewalskii. Efectuaram-se exames coprológicos qualitativos (flutuação e sedimentação) e quantitativos (câmara de McMaster), para a identificação e contagem de ovos de helmintes, e coproculturas (Roberts O'Sullivan), para identificação de larvas L3 e cálculo da prevalência e abundância proporcional dos géneros/espécies.

Todos os indivíduos estudados encontravam-se parasitados por nemátodes da família *Strongylidae*, com picos sazonais na Primavera e Outono. As oscilações mais marcadas foram detectadas nos cavalos de Przewalski, atingindo valores iguais a zero no mês de Agosto. Nas coproculturas, as L3 pertenceram a dois grupos de larvas, *Strongylus vulgaris* e *Cyathostomum* sensum latum, com prevalências de 100%, e abundâncias proporcionais de 20% e 80% do total de L3, respectivamente. Nas contagens de larvas por ml de coprocultura, obtivemos médias relativamente constantes ao longo do ano exceptuando na população de Cavalos de Przewalski, onde a variação foi bastante acentuada levando a considerar maior susceptibilidade ao factor água em relação às outras populações. Os estrongilídeos intestinais constituíram o único grupo de parasitas que foi assinalado, com particular destaque para os géneros *Cyathostomum* e *Strongylus*. Observaram-se diferenças relativamente à raça e à época do ano, sugerindo estratégias diferentes para fazer face ao parasitismo gastrointestinal.

Palavras-chave: parasitas gastrointestinais, Alter Real, Sorraia, Przewalski, consanguinidade, Portugal

Abstract

As the search for equids as animals for both sport and companionship increases it becomes necessary to better know the conditions inherent to their production. For this study we used animals raised in extensive regime in the Horse Stud Farm of Alter do Chão, with the objective of characterizing their gastrointestinal parasitism according to an array of factors such as race/species, age, inbreed level, availability of grass and its seasonal change.

The study included 2 species, *Equus ferus* spp. *przewalskii* and *E. caballus* (races Sorraia e Lusitana). We then proceeded to monthly collections throughout the year, adding up to 20 faecal samples a month distributed as follows: 10 Lusitanos, 7 Sorraias e 3 Przewalskii. At the laboratory, coprological exams were performed, both qualitative (flotation and sedimentation) and quantitative (McMaster slide), for egg identification and counts, and fecal cultures (Roberts O'Sullivan), to identify L3 larvae. Calculation of prevalence and proportional abundance of genera/species was performed too.

All of the individuals present in this study were infected by nematodes of the *Strongilidae* family, with seasonal peaks in Spring and Autumn. The more marked oscillations were detected in the Przewalski horse group, obtaining near zero counts in August. In fecal cultures, the L3 larvae belonged to two groups, *Strongylus vulgaris* e *Cyathostomum sensum latum*, with prevalences of 100% and proportional abundances of 20% and 80% of the total identified L3, respectively.

In the count of L3 larval stages by ml, we obtained means relatively constant along the year except in the case of the Przewalski horses, that showed a marked variation, indicating greater susceptibility to water as a limiting factor.

Intestinal strongyles were the only group of parasites found, with particular interest to *Cyathostomum* and *Strongylus*. Differences were observed pertaining to race/species and season, suggesting different strategies to face gastrointestinal parasitism.

Keywords: gastrointestinal parasites, Alter Real, Sorraia, Przewalski, inbreed, Portugal

Extended Abstract

As the search for equids as animals for both sport and companionship increases it becomes necessary to better know the conditions inherent to their production.

In recent years gastrointestinal parasitism has been gaining considerable relevance due to its importance in the welfare of animals. The horse has become an athlete of whom is required great performances, or the keeper of a genetic inheritance.

In either case the study of parasitism is a very important field of science. In athletes the best performance can only be achieved by those who are in good physical and health conditions. In the case of breeding horses, such as the ones in this study, parasitism is a factor in the production because it affects mares and, subsequently, the foals, leading to problems in the physical development and conformation, which are assessed when trying to enter the stud-book.

In this study we included two different species and within one of them two different breeds, with the objective of determining the importance of a factor in the parasitological study, and later on, to know if the effects are the same across species and breeds.

The factors taken in to account in this study were the species/breed, age, inbreeding level of the population, the availability of grass and its seasonal development and finally time, measured in months associated with the availability of water.

This study included three populations of equids, *Equus ferus przewalskii* and *Equus caballus* with two breeds represented. The Przewalski Horse is an ancient type of equid which hasn't been domesticated and has to be saved from extinction through breeding programs carried on by Zoo's across the world. The two breeds of *Equus caballus*, the Alter Real and the Sorraia Horse are two relatively small populations.

This study developed along a period of twelve months, with monthly collections of faeces which were cataloged and brought to the laboratory for analysis.

Every month 20 samples were collected, distributed by the three populations as follows:

- 10 samples from Alter
- 7 samples from Sorraia Horse
- 3 samples from Przewalski Horse

The samples would be brought to the laboratory of FMV-UTL for analysis by the methods utilized on coprologic diagnostic.

To measure the amount of eggs of *Strongylids* we used the McMaster slide method, two more methods were used but to search for different types of eggs such as flotation for cestodes and sedimentation for trematodes.

After these three tests we utilized the entire sample in a final test, the fecal culture, a method by Roberts and O'Sullivan, allowing the eggs to develop into larvae and after they reached the L3 stadium we identified them to determine which organisms were present and their abundance. The objective was to evaluate the prevalence and proportional abundance of the genera/species

present in the entire sample, allowing also to determine our capacity to extrapolate from the results of the McMaster slide.

Virtually all of the animals were infected by nematodes of the *Strongilidae* family, 99,975%, with seasonal peaks in the Spring and Autumn. The group showing the biggest amplitude in results was the population of the Przewalski Horse, obtaining near zero counts in August and higher peaks than the other groups in the Autumn and Spring.

The results for the fecal cultures revealed a similar pattern, and in terms of relative abundance the organisms present belonged to two groups: *Strongylus vulgaris*, with about 20% prevalence along the year, and *Cyathostomum s. l.* with the remaining 80% of the larvae identified. There was an exception: the month of September showed a 40-60% relative abundance for *Strongylus vulgaris* and *Cyathostomum s. l.* respectively. This is due to a migration undertaken by *Strongylus vulgaris* nematodes.

The count of L3 larvae/ml was relatively constant along the year for the two breeds of *Equus caballus*, but for the Przewalski Horse this wasn't true. Their counts varied immensely, probably by the effect of water in the eggs and larvae of *Strongylids*.

Aside from these two organisms we found no others, suggesting one of two options, either they are not in the pasture or they can't infect the horse with same efficiency as the two *Strongylids* appearing.

Finally the differences pertaining to climate changes and breed/species may suggest a difference in strategies to deal with the gastrointestinal parasitism.

Agradecimentos

Nenhum trabalho desta magnitude pode ser executado sem o contributo de outros que nos acompanham e disponibilizam a sua ajuda quando a ocasião se apresenta.

Gostaria de começar por agradecer aos meus orientadores, a Professora Doutora Maria do Mar Oom e ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho pelo apoio prestado a todos os níveis.

Gosto de pensar que para além da ajuda, orientação e apoio prestam também a sua amizade, a qual pretendo conservar.

Devo também reconhecer a colaboração do Professor Doutor Jorge Cadima e do Professor Doutor Pedro Aguiar Pinto, pela valiosa colaboração que deram na análise estatística e na caracterização da área de estudo, respectivamente.

Quero também agradecer àqueles com quem convivi durante o meu estágio no Laboratório da FMV-UTL, a Andreia Medeiros, o António Crespo, a Patrícia Figueiredo, o Pedro Anastácio, o Pedro Reis e o David Ramilo.

Um agradecimento também para a pessoa que acompanhou todo o trabalho no Laboratório, a Dra. Lúdia Gomes.

Na área prática gostaria de agradecer o apoio institucional prestado pela Coudelaria de Alter do Chão na pessoa do Engenheiro Francisco Beja.

Ainda na Coudelaria não posso deixar de agradecer àqueles que me acompanharam prestando o seu apoio e amizade, a Dra. Maria José Correia e o Tenente Manuel Henriques.

Tenho de prestar um agradecimento especial aos meus amigos que ao longo do tempo, quer pela colaboração durante o trabalho de Laboratório, quer pela colaboração na área de elaboração da tese têm que ser reconhecidos: Manuel Pereira, Luís Cunha, Simão Ma, Samuel Ma, Guilherme Rosinha e Cátia Lucas.

Por fim aos meus pais, em particular ao meu pai, seguindo as palavras de Eça de Queirós, “um moço bem apessoado e de fina ilustração” como divertidamente se costuma definir e que luta todos os dias (com moderado sucesso) para que eu seja o melhor ser humano passível de se obter com esta matéria prima.

Índice

Lista de figuras	IX
Lista de gráficos	X
Lista de tabelas	XI
1. Introdução	12
2. Revisão bibliográfica	14
2.1. Parasitismo	14
2.2. Os equídeos e o parasitismo gastrintestinal	14
2.3. Parasitas presentes no estudo	15
2.4. Sistemática e taxonomia	16
2.5. Subfamília Strongylinae Railliet, 1885	17
2.6. Género Strongylus Müller, 1780	17
2.7. Strongylus vulgaris Looss (1900) e Railliet & Henry (1909)	18
2.8. Subfamília Cyathostominae Nicoli, 1927	19
2.9. Ciclo biológico dos estrongilídeos	21
2.10. Estádios de vida livre	22
2.11. Actividade e sobrevivência das L3	24
2.12. Distribuição das L3 nas pastagens	25
2.13. Variações sazonais dos estádios de vida livre	26
2.14. Fase endógena	26
2.15. Epidemiologia dos estrongilídeos	27
2.16. Controlo da estrongilidose	27
2.17. Consanguinidade	29
3. Caracterização da área de estudo	31
3.1. Breve nota histórica	31
3.2. Caracterização climática	32
4. Caracterização das espécies e raças presentes no Estudo	34
4.1. Cavalo de Przewalski (<i>Equus ferus przewalskii</i> , Poliakov 1881)	34
4.1.1. Origem e evolução	34
4.1.2. Características gerais	35
4.1.3. Posição sistemática	35

4.1.4. Distribuição Actual	35
4.2. Cavalo Alter Real (<i>Equus caballus</i> , Linnæus, 1758)	36
4.2.1. Origem e evolução	36
4.2.2. Características Gerais	37
4.2.3. Posição Sistemática	37
4.2.4. Distribuição Actual	37
4.3. Cavalo do Sorraia (<i>Equus caballus</i> , Linnæus, 1758)	38
4.3.1. Origem e evolução	38
4.3.2. Características Gerais	39
4.3.3. Posição Sistemática	39
4.3.4. Distribuição Actual	39
5. Material e métodos	40
5.1. Material	40
5.1.1. Descrição dos núcleos em estudo	40
5.1.1.1. Núcleo de Cavalos de Przewalski	40
5.1.1.2. Núcleo Sorraia	41
5.1.1.3. Núcleo Alter	41
5.2. Métodos	42
5.2.1. Diagnóstico coprológico	44
5.2.1.1. Métodos qualitativos	44
5.2.1.2. Métodos quantitativos	45
5.2.2. Coproculturas	46
6. Tratamento Estatístico	49
7. Resultados	51
7.1. Contagens pelo Método de McMaster	51
7.2. Resultados das Coproculturas	53
7.3. Análise individual de cada núcleo	55
7.3.1. Núcleo Alter	55
7.3.1.1. Regressão linear	55
7.3.1.2. Método de Kruskal-Wallis	56
7.3.2. Núcleo de Cavalos de Przewalski	57
7.3.2.1. Regressão linear	58

7.3.2.2. Método de Kruskal-Wallis	58
7.3.3. Núcleo Sorraia	59
7.3.3.1. Regressão linear	59
7.3.3.2. Método de Kruskal-Wallis	60
7.3.4. Análise conjunta dos núcleos Alter e Sorraia	61
7.3.4.1. Regressão linear	61
7.3.4.2. Método de Kruskal-Wallis	62
8. Discussão	64
8.1. Núcleos individuais	64
8.1.1. Interpretação dos resultados do núcleo Alter	66
8.1.2. Interpretação dos resultados do núcleo de Cavalos de Przewalski	67
8.1.3. Interpretação dos resultados para o núcleo Sorraia	67
8.2. Conjunto dos núcleos Alter e Sorraia	68
8.3. Interpretação do factor consanguinidade	70
9. Conclusões	71
10. Considerações finais	72
11. Bibliografia	73
Núcleo Sorraia	84
Anexo 9 - Núcleo Alter	89
Anexo 10 - Núcleo Przewalski	91
Anexo 11 - Núcleo Sorraia	93
Anexo 12 - Conjunto dos Núcleos Alter e Sorraia	95

Lista de figuras

Figura 1 - <i>Strongylus vulgaris</i> (pormenor da boca) (Adaptado de www.nas.gov.ua)	18
Figura 2 - <i>Strongylus vulgaris</i> (original)	18
Figura 3 - <i>Cyathostomum catinatum</i> (pormenor da boca) (Adaptado de www.nas.gov.ua)	19
Figura 4 - <i>Cyathostomum spp</i> (original).....	20
Figura 5 - Ciclo biológico dos estrongilídeos (Adaptado de www.cal.vet.upenn.edu)	21
Figura 6 - Ovo de estrongilídeo (original)	22
Figura 7 - Coudelaria de Alter do Chão (instalações principais) (Adaptado do Google Earth).....	31
Figura 8 - Cavalo de Przewalski (original)	34
Figura 9 - Cavalo Lusitano de Alter Real (original)	36
Figura 10 - Cavalo do Sorraia (original).....	38
Figura 11 - Recolha no campo (original).....	43
Figura 12 - Identificação da recolha (original)	43
Figura 13 - Análise das amostras (original)	44
Figura 14 - Método de Willis (flutuação) (original)	44
Figura 15 - Método de Willis (sedimentação) (original)	45
Figura 16 - Método de Willis (pormenor da sedimentação) (original)	45
Figura 17 - Coprocultura, Método de Roberts O'Sullivan (original)	46
Figura 18 - Microscópio Olympus BX-50-3 (original)	48

Lista de gráficos

Gráfico 1 - Diagrama Ombrotérmico de Gaussen (estação de Portalegre).....	32
Gráfico 2 - Balanço Hídrico anual (estação de Portalegre)	33
Gráfico 3 - Prevalência de ovos de strongilídeos nas três populações estudadas ao longo do ano (Maio 2010 a Abril 2011)	51
Gráfico 4 - Somatório das contagens de OPG (ovos por grama) ao longo do ano dos 3 núcleos de equídeos analisados entre Maio de 2010 e Abril de 2011 pelo Método de McMaster.....	52
Gráfico 5 – Contagem do OPG médio para cada núcleo de equídeos ao longo de um ano (Maio de 2010 a Abril de 2011)	53
Gráfico 6 - Prevalência das espécies <i>S. vulgaris</i> e <i>Cyathostomum s.l.</i> em coprocultura ao longo do ano (Maio 2010 a Abril 2011)	53
Gráfico 7 – Somatório das contagens de L3/ml ao longo de um ano (de Maio 2010 a Abril 2011) com a percentagem relativa discriminada.....	54
Gráfico 8 – Contagem média das L3/ml ao longo de um ano (de Maio 2010 a Abril 2011).....	54
Gráfico 9 – Contagem do OPG médio ao longo do ano das Lusitanas de Alter Real com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo	55
Gráfico 10 – Contagem do OPG médio ao longo do ano do núcleo de Cavalos de Przewalski com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo	57
Gráfico 11 – Contagem do OPG médio ao longo do ano para os Cavalos do Sorraia com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo	59

Lista de tabelas

Tabela 1 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Lusitanas de Alter Real.....	Anexo 9
Tabela 2 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Cavalos de Przewalski.....	Anexo 10
Tabela 3 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Cavalos do Sorraia.....	Anexo 11
Tabela 4 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados do conjunto das populações de Lusitana de Alter Real e Cavalo do Sorraia	Anexo 12
Tabela 5 - Matriz de correlações entre as 5 variáveis que fazem parte da análise conjunta das populações Lusitana de Alter Real e Cavalo do Sorraia	Anexo 12
Tabela 6 - Tabela dos valores de p resultantes do teste de significância à correlação dos diferentes preditores em relação à variável resposta.....	Anexo 12

1. Introdução

*Constat in Lusitania circa Olisiponem oppidum et Tagum amnem equas fauonio flante obuertas animalem concipere spiritum, idque partum fieri et gigni perniciosissimum ita, sed triennium uitae non excedere*¹. Foi assim que Plínio, o Velho, descreveu o cavalo Lusitano aquando do domínio Romano na Península Ibérica. O cavalo Lusitano, o cavalo do Sorraia, potencial ancestral do primeiro, e o Cavalo de Przewalski, único cavalo selvagem existente na actualidade, representam três pontos evolutivos que tivemos a oportunidade de poder juntar num estudo, tendo como objectivo aprofundar conhecimento e a influência que o parasitismo gastrointestinal tem nos equídeos. Simultaneamente, este estudo conferiu-nos a possibilidade de comparar as interacções parasita-hospedeiro que ocorrem nestas três raças/espécies.

De entre as três populações em estudo a que mais se tem alterado, fruto de selecção intensa, tem sido o Lusitano. O tipo equino representado pela raça Sorraia permaneceu relativamente incógnito até à sua reconstituição por parte do Dr. Ruy d'Andrade e, ainda hoje, não há cruzamentos fora da raça, algo que também acontece com os Cavalos de Przewalski. Contudo, a etiologia da limitação de cruzamentos nos Cavalos de Przewalski centra-se na sua não domesticação, associado a um comportamento natural de desconfiança e de agregação mantido, limitando, desta forma a entrada de outros indivíduos. As condições de meio suportáveis pela raça Sorraia e pelos Cavalos de Przewalski sustenta concomitantemente esta falta de alteração, dado que poucos equídeos seriam capazes de aguentá-las e, consequentemente, estas populações estão relativamente isoladas.

O cavalo Lusitano é considerado o mais antigo cavalo de sela do Mundo. Cinco mil anos depois, continua a gerar semelhante ou superior interesse, agora como um produto refinado e um bem de grande valor. A nível nacional, é cada vez mais entendido como um animal de lazer e de desporto, já longe da sua utilização para trabalho no campo. A nível internacional, é considerado um bem exportável, com grande procura devido às suas qualidades já provadas, ou tendo em vista o aperfeiçoamento de outras raças. O seu livro genealógico tem cerca de 7000 inscritos por todo o país.

Devido ao reduzido efectivo, o cavalo do Sorraia está envolvido num plano de conservação tendo em vista a preservação da raça. Constituída por apenas 200 indivíduos, a população fundada por poucos elementos, e sem introdução de outros, sofre de graves problemas de consanguinidade. Recentemente, foi publicado o Livro Genealógico, no sentido de assegurar uma optimização da gestão da população.

O Cavalo de Przewalski foi recentemente descoberto na natureza, capturado para zoos e posteriormente extinguiu-se. Os restantes elementos que se encontravam em zoos foram alvo de programas de reabilitação da espécie e mais recentemente começaram a ser libertados na Natureza, em condições controladas.

Este trabalho teve como objectivo um estudo aprofundado do parasitismo gastrointestinal destes

¹ Consta que próximo do ópido de Olissipo e do rio Tejo, na Lusitânia, as éguas viradas para a brisa do favónio recebem um sopro fecundante e deste modo se gera uma cria muito veloz, mas que não ultrapassa os três anos de vida

equídeos e dos factores que o influenciam, como a época do ano, a idade dos indivíduos, a presença e disponibilidade de erva, a raça/espécie e a consanguinidade, um factor nunca antes abordado desta perspectiva. Este trabalho trará, também, um conhecimento mais concreto da influência que os factores abióticos têm em diferentes populações e na forma como elas lidam com os mesmos.

Este trabalho tem também como objectivo descrever, através de um modelo, o ciclo parasitológico ao longo de um ano e dar a capacidade de prever as alterações do parasitismo enquanto factor, racionalizando os meios para o seu combate, caso seja necessário.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Parasitismo

Parasitismo é uma relação trófica desenvolvida entre dois seres assente no equilíbrio entre a necessidade de consumo de nutrientes por parte do parasita e a sobrevivência do hospedeiro, pois sem hospedeiro o parasita morre também.

Os parasitas são seres ubíquos e cuja adaptação a diferentes habitats e hospedeiros se desenvolve com grande naturalidade. Podemos encontrá-los na água, quer doce quer marinha, e em terra e compreendem um grande espectro de hospedeiros.

O parasitismo, nas suas diferentes vertentes, é um dos principais factores a ter em conta na produção animal. A melhor compreensão deste factor conduz à redução da mortalidade e morbilidade e portanto a melhores resultados quer ao nível da produção quer do bem-estar animal.

Para que possamos reduzir a influência que este factor tem é necessário conhecer os seus intervenientes, do lado da produção e do lado dos agentes parasitários associados às respectivas infecções.

Vamos abordar em particular o grupo dos parasitas gastrointestinais e a sua influência nos equídeos.

2.2. Os equídeos e o parasitismo gastrintestinal

Os equídeos têm uma relação já muito longa com os seus parasitas. Ronda os 75 milhões de anos de especialização por parte de parasitas ao hospedeiro e o inverso também.

De acordo com Leitão (1978) os equídeos seriam os animais domésticos sujeitos ao maior número de espécies parasitárias, no entanto, mais recentemente trabalhos de Zajac & Conboy (2006) vêm demonstrar que a diversidade de parasitas encontrados nas fezes de equídeos é menor, quando comparada com outros animais domésticos.

Ainda que em menor número, os equídeos continuam a ser parasitados por uma variedade de parasitas gastrointestinais que se caracterizam por possuírem diferentes ciclos biológicos. Alguns destes ciclos são muito longos podendo demorar 12 meses até ao aparecimento de larvas adultas e outros muito rápidos a rondar as 6-8 semanas. Durante este tempo a pastagem actua como reservatório, sendo o mais eficaz veículo de infecção, através das larvas que nela existem. Em animais estabulados ou que tenham contacto com a pastagem, o parasitismo é também possível através da ingestão de fenos ou palhas bem como más condições de higiene na box.

De todos os parasitas gastrointestinais há que destacar os helmintos, pois a eles estão associadas um grupo de infecções, as helmintoses, muito graves e causadoras de grande mortalidade nos equídeos, Leitão (1978).

De entre os helmintos merecem-nos especial consideração os strongilídeos, pois no conjunto dos agentes nosológicos dos equinos, os nematóides da família *Strongylidae* constituem o grupo de parasitas mais importantes do cavalo, Duncan (1982).

Desde há muito que se tem conhecimento da importância do parasitismo, no entanto foi apenas no início do século XX que se começaram a efectuar trabalhos de pesquisa e identificação destes parasitas.

Para aprofundar o conhecimento dos principais agentes parasitários e os seus ciclos de vida, desenvolveram-se diversas técnicas de diagnóstico, de entre as quais se destaca o método coprológico. Este método tem como vantagens o custo reduzido e a sensibilidade aos agentes parasitários dos equinos, permitindo caracterizar os principais aspectos da biologia, epidemiologia e do controlo da doença, que provocam, tendo levado à consideração de que os *strongilídeos* são os principais causadores de doença gastrointestinal, (Duncan, 1985; Love & Duncan, 1991).

A doença parasitária assume um papel relevante, pois resulta de um desequilíbrio entre parasita e hospedeiro. Todos os equídeos estão ou já estiveram parasitados por *strongilídeos*, no entanto a doença só se manifesta quando em situações já muito graves. O resultado é uma doença com manifestações subclínicas mas não menos fulminante, escondendo o seu valor real enquanto factor de mortalidade na produção equina, (Madeira de Carvalho, 2008).

A doença resultante da infecção por *strongilídeos*, *strongilidose*, tem, portanto, grande importância ao longo do ciclo produtivo por constituir uma grave ameaça ao bem-estar animal, mais ainda quando se trata de animais jovens (Chapman, 2003).

No panorama nacional foram registados até ao momento representantes de 32 espécies, 8 da subfamília *Strongylinae* e 24 da subfamília *Cyathostominae*. Tem-se vindo a verificar na última década que os nemátodes do género *Strongylus* têm perdido terreno, em termos de percentagem relativa, face aos *Cyathostominae*, que têm vindo a ser assinalados com prevalências de 100% nos rastreios mais recentemente efectuados em explorações coudélicas nacionais.

A *strongilidose* provocada por alguns tipos de *strongilídeos* é ainda promotora de outros problemas de saúde como as cólicas. De acordo com Reynemyer (2009) este não é um factor comum a todos os *strongilídeos* mas apenas a *Strongylus vulgaris*, *Parascaris equorum* e *Anoplocephala perfoliata*, sendo que um destes tem grande importância no estudo desenvolvido ao longo deste trabalho.

2.3. Parasitas presentes no estudo

Vamos abordar neste capítulo os organismos encontrados ao longo do estudo, a sua identificação, caracterização e factores que influenciam a sua acção nas diferentes populações estudadas neste trabalho.

Tentaremos dar também uma ideia do caminho que se percorreu até chegar aqui, desde a descoberta destes parasitas até ao presente, a justificação para as variações na sua prevalência e percentagem relativa, na sua presença na pastagem, como lidar com as resistências aos anti-helmínticos e o que nos espera para o futuro.

Nos últimos 20 anos, as explorações coudélicas sofreram alterações. O sistema de pastoreio tornou-se mais intensivo, com uma maior concentração de cavalos por hectare, o que potencia a transmissão e o desenvolvimento de resistência aos anti-helmínticos, criando novos desafios para o controlo das parasitoses, em particular das gastrointestinais (Madeira de Carvalho, 2006a).

Como já mencionámos anteriormente os principais organismos parasitários pertencem à família *Strongylidae*, tendo este destaque devido à sua frequência de aparecimento, ubiquidade e patogenicidade. A família *Strongylidae* está dividida em duas subfamílias, *Strongylinae* e *Cyathostominae*.

De acordo com Ogbourne (1978), os nematóides da superfamília *Strongyloidea* são conhecidos como parasitas do intestino grosso dos equinos e estes são infectados durante a sua actividade de pastoreio. Esta actividade promove o parasitismo em grupo como padrão de sobrevivência, podendo o mesmo hospedeiro estar parasitado por diferentes espécies de estrongilídeos em simultâneo, atingindo um total de 1-3 milhões de estrongilídeos num único hospedeiro.

2.4. Sistemática e taxonomia

A classe Nematoda: Composta pelos “vermes cilíndricos”, caracterizam-se por não serem segmentados, apresentarem uma cor esbranquiçada ou avermelhada e possuírem boca, esófago e ânus. O seu corpo é revestido por uma camada translúcida denominada de cutícula (Shapiro & Shapiro, 2004).

Esta cutícula é rica em substâncias semelhantes à quitina dos artrópodes e apresenta, na generalidade estrias transversais, ou longitudinais. Seguidamente temos uma camada subcuticular e, mais interiormente, a camada muscular cujas características diferem morfológicamente de grupo para grupo possibilitando o seu uso como critério de identificação.

Nesta classe os parasitas possuem, geralmente, os dois sexos separados, sendo, também na generalidade as fêmeas maiores que os machos. A sua reprodução pode ser ovípara ou larvípara. Dispõem de diferentes mecanismos de infecção, como a ingestão de ovos, de larvas ou de larvas enquistadas. É também possível a infecção através de vectores ou pela penetração da larva num tecido ou superfície.

O seu desenvolvimento pauta-se pela passagem por vários estádios evolutivos denominados L1, L2, L3, L4, L5. As formas infectantes estão normalmente associadas ao estágio L2 ou L3, sendo L5 o estágio adulto. Possuem períodos de desenvolvimento no interior e no exterior do hospedeiro, atingindo a fase adulta após a ingestão pelo hospedeiro definitivo.

Dentro do hospedeiro definitivo, e até atingirem o estágio L5, podem cingir-se ao lúmen intestinal ou ingressar em migrações por diversos órgãos, sendo que uma das vias migratórias mais importantes é a entero-pneumo-hepato-traqueo-enterica.

Estes nemátodes pertencem à Ordem *Strongylida*, Superfamília *Strongyloidea*, Família *Strongylidae*. Os membros desta família *Strongylidae* possuem uma cápsula bucal (figuras 1 e 3) bem desenvolvida com duas coroas radiadas ou denticulares e os machos uma bolsa copuladora bem desenvolvida com espículas longas e finas (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman, *et al.*, 2003; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Até ao momento estão identificadas cerca de 70 espécies de estrongilídeos em equídeos, (Lichtenfels *et al.*, 1998). Como já foi mencionado a família *Strongylidae* está dividida em 2 ramos, a subfamília *Strongylinae* e a subfamília *Cyathostominae*. Esta divisão ainda não é consensual, necessitando de mais pesquisa, especificamente no ramo da filogenia para garantir que alguns

dos géneros presentes nestas subfamílias serão pertencentes a esse grupo ou se deverão ser mudados para o outro.

Como exemplo deste facto temos os géneros *Triodontophorus*, *Oesophagodontus*, *Craterostomum* e *Bidentostomum*, actualmente agrupados na subfamília *Strongylinae* mas passíveis de se assemelharem mais aos elementos da subfamília *Cyathostominae* (Lichtenfels *et al.*, 2002; Lichtenfels *et al.*, 2008).

A subfamília *Strongylinae* (Railliet, 1885) é composta por 14 espécies pertencentes a 5 géneros, sendo um deles o género *Strongylus* cujas espécies são consideradas como as mais patogénicas em equídeos (Bowman *et al.*, 2003).

A subfamília *Cyathostominae* (Nicoli, 1927): Esta subfamília é composta por 50 espécies válidas dispostas em 14 géneros, embora algumas destas espécies apenas tenham sido descritas em asininos e zebras e outras foram reportadas poucas vezes (Lichtenfels *et al.*, 1998; Matthews *et al.*, 2004).

Embora havendo um grande número de espécies crê-se que as 10 mais comuns somadas atinjam os 90% do número total de adultos presentes no intestino dos equídeos (Ogbourne, 1976, 1978; Matthews *et al.*, 2004).

2.5. Subfamília *Strongylinae* Railliet, 1885

As espécies pertencentes esta subfamília tem a característica de desenvolver migrações muito complexas no organismo do hospedeiro, como na artéria mesentérica cranial, fígado e pâncreas causando lesões e alterações de vária ordem (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Reynemeyer, 2008).

São geralmente de tamanho médio a grande, com características morfológicas específicas, como é o caso da cápsula globular ou em funil, que as diferencia da subfamília *Cyathostominae*, (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

2.6. Género *Strongylus* Müller, 1780

Os parasitas do género *Strongylus* caracterizam-se pelo tamanho médio a grande, cápsula bucal sub-globular mais alongada do que larga, com coroa de denticulos, com ou sem dentes no seu fundo e com uma goteira esofágica dorsal bem desenvolvida (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

O género é composto por um total de três espécies mas vamos abordar apenas a espécie *Strongylus vulgaris* por ser a mais relevante para este trabalho e de longe a mais frequente das três.

2.7. *Strongylus vulgaris* Looss (1900) e Railliet & Henry (1909)



Figura 1 - *Strongylus vulgaris*
(pormenor da boca)
Adaptado de www.nas.gov.ua

De entre as três espécies que compõe o género é a mais pequena, com o comprimento dos machos compreendido entre os 13-16 mm e o das fêmeas entre os 20-24 mm. Distingue-se das restantes espécies por possuir uma cápsula bucal com dois dentes arredondados que se estendem até ao meio da cápsula bucal, e pelo lobo dorsal da bolsa copuladora ser mais comprido que os lobos laterais (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Actualmente, esta espécie já não representa a maioria dos organismos encontrados nas fezes dos equídeos, no entanto a sua relevância não passa para segundo plano, pois mesmo perdendo importância em termos numéricos, a sua patogenicidade é de longe muito superior à dos restantes organismos.

Com a ingestão e migração para o intestino delgado as L3 perdem a bainha e atravessam a mucosa e submucosa. A mudança para L4 ocorre 2 dias depois e ao fim de 7 dias penetram nas arteríolas migrando até às artérias intestinais.

Atingem a artéria mesentérica cranial num período de 2 semanas, onde irão permanecer por cerca de 2-4 meses até atingirem o estágio L5, altura em que iniciam a migração para o intestino grosso.



Figura 2 - *Strongylus vulgaris* (original)

Já no intestino, na face serosa formam nódulos em torno dos vasos parasitados. Este evento deve-se à sua incapacidade de se mover pelo constrangimento da artéria. Após a rotura deste nódulo as larvas adultas são libertadas no intestino e levarão 6-8 semanas até atingir a maturidade sexual. O período pré-patente desta espécie é de 6-11 meses (Carter & Payne, 2007). Devido às oscilações sazonais, que serão debatidas mais a frente, os equídeos em pastagem encontram-se mais expostos a estas formas durante o Verão, conduzindo a um aumento de L4 na

artéria mesentérica cranial atingindo o pico no Outono/Inverno.

Com o período de incubação de 2-4 meses na artéria mesentérica cranial e a migração para o intestino grosso que lhe sucede, a ocorrer na Primavera, regista-se um aumento de infecção ao nível da pastagem (Ogbourne & Duncan, 1985; Duncan & Love, 1990).

Este facto é verdadeiro para alguns tipos de clima, mas não para todos, pois em climas de Verão seco e Inverno húmido regista-se o inverso.

Para que pudéssemos ter uma noção da influência do clima foi feita uma caracterização climática da zona onde se efectuaram as recolhas.

Equídeos infectados por *Strongylus vulgaris* podem apresentar inúmeros sintomas, sendo os mais graves anemia, diarreia, atraso de crescimento em jovens e cólicas (Carter & Payne, 2007). A presença de nemátodes desta espécie está também relacionada com o aparecimento de cólicas (Reynemyer 2009).

2.8. Subfamília Cyathostominae Nicoli, 1927

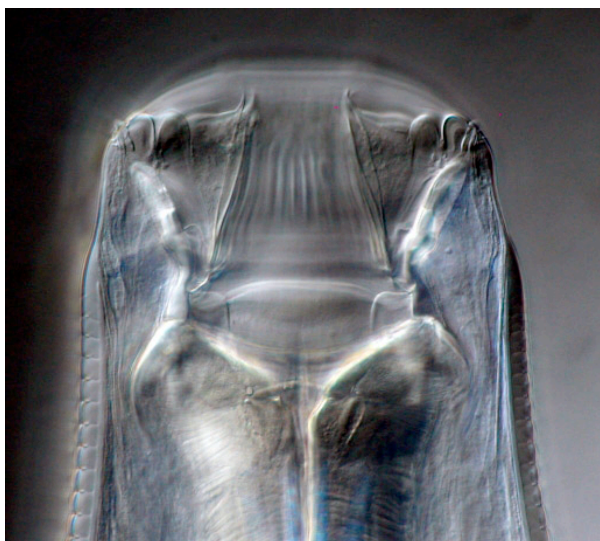


Figura 3 - *Cyathostomum catinatum* (pormenor da boca)
Adaptado de www.nas.gov.ua

A subfamília *Cyathostominae*, também designados por ciatostomíneos ou pequenos estrongilídeos (Lichtenfels, Gibbons & Krecek, 2002), representa actualmente o conjunto de parasitas mais importantes em equinos (Love *et al.*, 1999).

Segundo Bowman (2004) 75-100% dos ovos eliminados nas fezes de equídeos deverão pertencer a esta subfamília e este valor dá uma clara vantagem sobre os ovos produzidos pelos grandes estrongilídeos ou estrongilíneos.

Neste trabalho não procedemos à identificação da espécie de cada um dos ciatostomíneos presentes, pois este não constitui um dos objectivos do presente trabalho e porque a sua identificação é um

processo complicado devido às pequenas variações morfológicas que fazem diferir cada uma das espécies (Lichtenfels *et al.*, 2008).

Assim sendo apresentamos uma caracterização para a subfamília *Cyathostominae* não discriminando nenhuma das espécies que a compõe mas mencionando aquelas que surgem com mais frequência.

Sabemos que este género é composto por 54 espécies e que algumas delas são muito abundantes e prevalentes, enquanto outras surgem muito raramente, mas mais à frente reportar-nos-emos a este facto.

Os ciatostomíneos caracterizam-se por um tamanho pequeno a médio (6 a 20 mm) e pela cápsula bucal cilíndrica, sendo esta última uma das características relevantes na separação das duas subfamílias (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Ao longo do seu ciclo biológico, os ciatostomíneos não efectuem nenhum tipo de migração pela economia orgânica do hospedeiro, centrando toda a sua actividade na parede do ceco e do cólon (Ogbourne 1978).

Imediatamente após a infecção do hospedeiro definitivo, as larvas L3 perdem a bainha no intestino delgado e ceco, abrindo caminho até ao ceco e cólon maior.

Geralmente cada espécie tem o seu lugar no intestino grosso (ceco, cólon ventral direito e cólon ventral esquerdo), quer ao nível da mucosa quer submucosa, factor revelador de algum tropismo (Madeira de Carvalho *et al.*, 2000).

Durante o processo de mudança de estágio entre as larvas L3 e L4 que se encontram já na mucosa ou submucosa do ceco e/ou cólon, são envolvidas por fibroblastos formando quistos fibrosos.

De acordo com Reynemeyer (1986) e Love & Duncan (1988): “As larvas alojadas na mucosa mudam para o quarto estágio ao fim de 6-12 dias e saem para o lúmen 1-2 meses após a permanência na parede intestinal”. Após o desenvolvimento, “as L4 passam para o lúmen do intestino grosso e mudam para L5. Já as larvas que permanecem na submucosa podem iniciar a quarta muda antes de passarem para o lúmen intestinal”.

O seu período pré-patente é substancialmente inferior ao das espécies que compõe a subfamília *Strongylinae*, dando-lhes uma vantagem competitiva, tema que iremos abordar mais à frente.

Este período pode ser prolongado devido a um processo denominado de hipobiose, uma fase de inibição de crescimento (Love & Duncan, 1988).

Urquhart *et al.* (1987) definiram este conceito de hipobiose como uma cessação temporária do desenvolvimento de um nematóide.



Figura 4 - *Cyathostomum spp* (original)

De acordo com Gibbs (1986): “A hipobiose é uma adaptação do ciclo-biológico que permite sincronizar o desenvolvimento do parasita com as alterações do seu ambiente, facilitando a sua sobrevivência e transmissão e que parece constituir uma fase normal do ciclo de vida dos ciatostomíneos nos países de clima temperado do Hemisfério Norte”.

Esta fase de inibição do desenvolvimento é activada quando não estão reunidas as condições necessárias para o bom desenvolvimento do parasita. Pode ser por condições ambientais desfavoráveis, imunidade do hospedeiro, densidade populacional muito elevada de outros parasitas ou devido a acção terapêutica. Estes factores é que determinam a necessidade e a duração do estado de hipobiose (Reynemeyer, 1986; Love *et al.*, 1999).

Aquando da sua hipobiose, estas larvas permanecem enquistadas no intestino dos cavalos, constituindo aproximadamente 90% da população de cistostomíneos presentes nos equinos durante o inverno (Eysker *et al.*, 1984; Reinemeyer & Herd, 1986; Duncan *et al.*, 1998).

A saída de larvas para o lúmen após a hipobiose ocorre no Inverno e princípio da Primavera. Tal facto assegura uma nova geração de parasitas prontos a infectar durante as estações do ano que são mais favoráveis à sua transmissão (Reynemeyer, 1986).

Tais períodos levam a que as percentagens relativas de espécimes adultos no início do Outono se alterem dos comuns 80% de ciatostomíneos e 20% de estrongilíneos, para cerca de 60-40%.

Devido aos diferentes mecanismos que têm à sua disposição bem como a um intervalo de gerações muito curto, os ciatostomíneos estão numa posição privilegiada para a sua constante evolução. Segundo Troncy (1980), estamos perante uma explosão evolutiva destes nematóides, tendo por base a possibilidade de hibridação das espécies. Muitos híbridos conseguiriam dar origem a espécies viáveis. Contudo não é fácil provar a existência destas espécies pois resultam de cruzamentos dentro de um hospedeiro e a sua percentagem relativa é sempre muito baixa (Ogbourne, 1976; Chapman *et al.*, 2003; Kuzmina *et al.*, 2011).

Este factor veio acrescentar um problema. Estes intervalos entre gerações muito curtos e a possibilidade de hibridação aumentam grandemente a capacidade de adaptação dos ciatostomíneos, desenvolvendo com alguma facilidade resistência aos antihelmínticos (Murray, 2003).

2.9. Ciclo biológico dos estrongilídeos

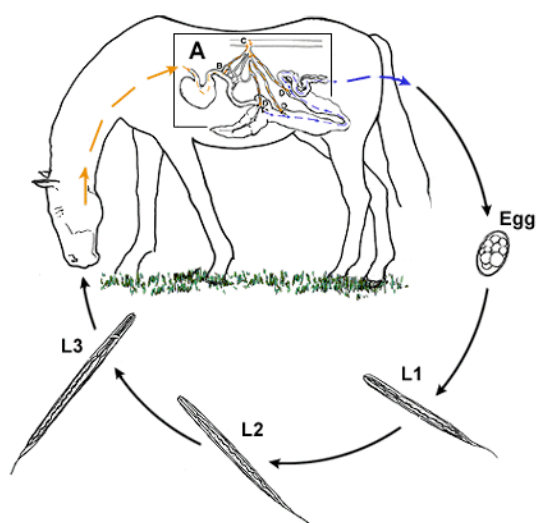


Figura 5 - Ciclo biológico dos estrongilídeos
Adaptado de www.cal.vet.upenn.edu

O ciclo biológico (figura 5) comum a todos os estrongilídeos é monoxeno, o que significa que não têm hospedeiro intermediário ou que o parasita completa o seu ciclo no mesmo hospedeiro.

De acordo com Soulsby, (1965) e Ogbourne & Duncan, (1985) o desenvolvimento dos estrongilídeos apresenta duas fases: o desenvolvimento exógeno, fora do hospedeiro, na pastagem com estádios de vida livre; e uma fase de desenvolvimento endógeno, dentro do hospedeiro, com migrações complexas atingindo a forma adulta no intestino grosso.

A fase exógena é comum a ambas as subfamílias, bem como todas as suas condicionantes, de desenvolvimento e sobrevivência, em particular as condições ambientais

(Reinemeyer, 2009; Nielsen *et al.*, 2007).

As diferenças que depois se registam na fase endógena foram já mencionadas anteriormente e prendem-se essencialmente com as abordagens que cada larva toma no seu desenvolvimento, sendo a maior diferença a complexidade das migrações no organismo do hospedeiro (Reinemeyer, 2009).

Sendo um dos principais habitats das larvas, a erva constitui-se como um importante campo de estudo no sentido de compreender em que grau os equídeos se encontram expostos a condicionantes que favorecem o aparecimento de parasitoses.

Tendo em vista o seu estudo, foi desenvolvida por Taylor (1939), posteriormente modificada por Ludwig & Johnstone (1984) e Madeira de Carvalho (1993), uma técnica tendo em vista a amostragem e colheita de erva para estudo parasitário.

2.10. Estádios de vida livre



Figura 6 - Ovo de estrongilídeo (original)

O ciclo biológico dos estrongilídeos é composto por quatro estádios na fase exógena. São eles o ovo, (figura 6) L1, L2 e L3.

Como já mencionado, esta fase exógena, fora do hospedeiro, é comum a ambas as subfamílias.

Após a ovopostura, os ovos são eliminados nas fezes desenvolvendo-se no meio ambiente. A forma infectante, larva L3 é ingerida pela equídeo aquando do pastoreio, perpetuando o ciclo.

Este é o principal motivo pelo qual a desparasitação não pode ser apenas um processo médico com a

permanente administração de antihelmínticos, mas terá de ser um processo resultante de um manejo sustentado da população de equídeos e de um manejo da pastagem. Este caminho é aquele que leva à racionalização do uso de desparasitantes e ao atraso no desenvolvimento de resistências aos medicamentos por parte dos parasitas.

A distinção entre as diferentes espécies quando na forma de ovo é um processo bastante difícil, no entanto Euzéby (1958, 1982) e Thienpont *et al.* (1986) referem caracteres diferenciais para os ovos de *Strongylus*, *Triodontophorus* e *Cyathostominae*.

Depois da eclosão aparecem as larvas do tipo L1 e a sua alimentação consiste em bactéria e protozoários das fezes (Ogbourne, 1978; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). O crescimento leva ao desenvolvimento para o estágio L2.

As larvas L2 são morfologicamente muito semelhantes às larvas L1, apenas maiores em tamanho e a sua alimentação mantém-se constante e do mesmo tipo que as larvas L1. Esta fase é particularmente importante pois no próximo estágio as larvas estarão impossibilitadas de se alimentar, tornando o estágio L2 muito importante para a acumulação de reservas. Ambos os estádios, L1 e L2, caracterizam-se por serem larvas rhabditiformes, tendo um esófago com uma parte anterior fusiforme, que se prolonga posteriormente por um bulbo.

A passagem para o estágio L3 leva entre 1-3 semanas (Carter and Payne, 2007). Durante esse período assistimos à transição da cutícula para bainha. A cutícula destaca-se e forma a bainha com o objectivo de defender a larva das condições ambientais desfavoráveis como é a dessecação, possibilitando uma permanência na pastagem mais duradoura (Monahan, 2000; Nielsen *et al.*, 2007 ;Corning, 2009). No entanto a presença da bainha impossibilita a alimentação por parte da larva, forçando-a a depender exclusivamente das reservas acumuladas no estágio L2. Estas reservas são acumuladas nas suas células intestinais (Dunn, 1978; Soulsby, 1986).

De acordo com o já mencionado, este é o estágio infectante dos strongilídeos.

A fase parasitária iniciar-se-á com o contacto com o hospedeiro, proporcionado por uma pequena migração da larva desde as fezes até à erva circundante, onde o equídeo pastará e quando ingerir erva irá ingerir também a larva (Ogbourne & Duncan, 1985).

No caso particular dos *Strongylus vulgaris*, Medica *et al.* (2006) afirmam que, devido à sua atracção pela massa fecal e urina em vez de erva, a sua contaminação é mais eficiente em zonas de pastoreio com massa fecal e com grande densidade de animais em pastoreio. Os aspectos ecológicos são determinantes no desenvolvimento das larvas uma vez que o resultados destas condicionantes determinam o sucesso ou a viabilidade de uma larva. Estes aspectos são tão diversos como a temperatura, humidade, tipo de coberto vegetal, disponibilidade de oxigénio, luz solar, predadores e factores bióticos ou abióticos proporcionados pelo micro ambiente das fezes dos equinos.

O desenvolvimento dos estádios de vida livre de strongilídeos até à forma infectante e sobrevivência posterior são fortemente influenciados pelo clima, essencialmente pela temperatura e humidade (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Nielsen *et al.*, 2007). Geralmente tomam-se a temperatura e humidade como os factores mais relevantes, devido a estudos e trabalhos de campo conduzidos por, Love & Duncan (1988) e Mfitlodze & Hutchinson (1998)

Um estudo conduzido por Bezerra *et al.* (2007) identifica a chuva como um elemento essencial no comportamento das larvas, por fornecer a humidade necessária para a sua migração desde as fezes até à zona de pasto onde serão ingeridas. Ogbourne & Duncan (1985), com recurso a ensaios laboratoriais à temperatura de 4°C e 6°C afirmam que para a primeira temperatura não existe alteração no desenvolvimento do ovo e que para a segunda temperatura o ovo embriona mas não eclode, concluindo assim que a temperatura mínima para a eclosão dos ovos é de 8°C. A conservação dos ovos de strongilídeos foi registada por Hassinger (1981) com temperaturas entre os -10°C e os 4°C, afirmando que podiam originar larvas viáveis ao fim de 10 ou 8 meses, respectivamente.

As temperaturas que possibilitam o desenvolvimento do maior número de larvas infectantes situam-se entre os 20-33°C, enquanto que a temperatura óptima situa-se entre os 25-28°C de acordo com Rupasinghe & Ogbourne (1978), Reynemeyer (1986), Soulsby (1986), Mfitlodze & Hutchinson (1987) afirmaram no entanto que este desenvolvimento larvar a partir de ovos já é possível a partir de temperaturas entre os 13-18°C.

Num estudo mais recente, desenvolvido na Ucrânia, por Kuzmina *et al.* (2006), cerca de 42% das larvas que se encontravam nas massas fecais depositadas em Setembro sobreviveram até à

Primavera, enquanto que todos os ovos e estádios larvares iniciais (massas fecais colocadas em Novembro) morreram durante o Inverno quando os termómetros registaram temperaturas inferiores a 3°C.

Este facto leva a que, em climas tropicais, o desenvolvimento das larvas desde o ovo até à forma infectante possa decorrer durante o ano inteiro, uma vez que mesmo no Inverno as temperaturas raramente são inferiores a 8 °C. Independentemente da temperatura, o desenvolvimento larvar pode-se dar nos limites máximo ou mínimo no entanto este facto pode potenciar a mortalidade larvar pois implica uma diferente gestão de recursos. Recorde-se que nesta fase a larva L3 não se alimenta, vive apenas das reservas.

Quinelato *et al.* (2008) procuraram estudar estes factores fazendo duas recolhas diárias, uma de manhã e outra a meio da tarde, e apenas com diferença de horas registou grande variação no número de larvas recolhido, atribuindo este resultado às diferenças de temperatura e humidade registados ao longo do dia. Este estudo adianta também sobre a localização das larvas nas diferentes estações do ano: no Outono e Inverno encontram-se nas folhas da erva enquanto que no fim da Primavera e no Verão se encontram na base da erva, junto ao solo. Este facto é particularmente importante em climas muito frios ou muito quentes de acordo com Rupasinghe & Ogbourne (1978), English (1979), Mfitylodze & Hutchinson (1987, 1988). Assim sendo, as zonas do planeta em que o desenvolvimento é mais favorável são as zonas temperadas, quer do hemisfério Norte quer do hemisfério Sul, uma vez que o desenvolvimento pode decorrer ao longo do ano com temperaturas moderadas que não colocam em risco o desenvolvimento larvar e não obrigam a grande risco na utilização das reservas.

Mfitylodze & Hutchinson (1987) constataram que o nível mínimo de humidade relativa na massa fecal para o desenvolvimento das formas infectantes dos estrongilídeos deve ser superior a 14%, factor que se provará importante ao longo deste estudo em particular no caso dos Cavalos de Przewalski.

Em regiões caracterizadas por Verões muito secos, o facto de espalhar as fezes em vez de as deixar em monte, provoca uma dessecação mais rápida reduzindo a população de estrongilídeos na massa fecal e consequentemente no ambiente (Bowman *et al.*, 2003).

2.11. Actividade e sobrevivência das L3

As larvas necessitam de uma película de água, já mencionada (higrotropismo positivo), para se poderem mover das fezes para a erva da pastagem: 89% das larvas podem-se deslocar cerca de 15 cm em relação aos excrementos e os restantes 11% atingem até 30 cm funcionando as fezes como reservatórios de larvas, sendo estas migrações periódicas (Ogbourne, 1972 e English 1979).

Estudos comprovam que as larvas infectantes sobrevivem em períodos secos nas bolas fecais, mas migram para a pastagem quando os níveis de humidade e precipitação o permitem (Kuzmina *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2007). Em Portugal, estudos efectuados no Ribatejo em pastagem espontânea de sequeiro, permitiram observar que 95% das L3 migram até 15 cm de distância das fezes e que apenas 5% o fazem entre 15 e 30 cm. A percentagem de desenvolvimento dos ovos

até L3 apresentou uma correlação positiva significativa com os valores de temperatura e variação da população de L3 neste tipo de pastagem. Neste trabalho verificou-se que a dissecação e chuva de carácter concentrado foram determinantes na migração das larvas (Madeira de Carvalho *et al.*, 2005). A acrescentar a este facto é também sabido e foi já mencionado que as larvas sobem a vegetação durante as horas crepusculares, quando a humidade é maior, (Madeira de Carvalho, 2003a). Em períodos de seca, as L3 permanecem nas fezes ou deslocam-se em direcção ao solo (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

Uma vez que a sobrevivência das L3 está directamente relacionada com as reservas alimentares reunidas durante os estádios ovo, L1 e L2, o que determina a sua esperança de vida é o seu consumo de reservas, e portanto o seu grau de actividade. Esta, por sua vez, está também relacionada com a temperatura do meio ambiente: temperaturas mais altas provocam maior consumo; e temperaturas mais baixas reduzem o metabolismo, reduzindo também o consumo e fazendo as reservas durar mais tempo (Mfitlodze & Hutchinson, 1987).

Devido ao factor temperatura, o período de Verão regista taxas de metabolismo mais altas obrigando a larva a consumir as reservas muito mais depressa, reduzindo a capacidade de sobrevivência.

A motilidade larvar cessa e as reservas lipídicas das L3 diminuem significativamente após 8 dias a 38°C. Esta depleção de ácidos gordos também reduz a capacidade de infectar o hospedeiro (Medica *et al.*, 1996; Medica & Sukhdeo, 1997).

No Inverno, as baixas temperaturas provocam um decréscimo do metabolismo conservando as reservas e portanto capacitando as larvas para um maior tempo de sobrevivência. Significa isto, de acordo com Reynemeyer (1986) e Mfitlodze & Hutchinson (1998), que existem condições óptimas para o seu desenvolvimento e actividade e condições óptimas mas opostas para a sua sobrevivência e manutenção no meio ambiente.

2.12. Distribuição das L3 nas pastagens

Uma vez que os cavalos pastoreiam em zonas mais afastadas das zonas em que existem excrementos observam-se dois tipos de áreas na pastagem: a área onde os animais defecam e outra zona onde os animais se alimentam (Archer, 1980; Herd, 1986; Reynemeyer, 1986).

Tendo em conta que as larvas se juntam próximo das massas fecais e se movimentam, na sua grande maioria, num raio de 15 cm, a sua concentração é naturalmente muito superior, cerca de 15 vezes, nas zonas de defecação (com erva alta) comparativamente com as zonas de alimentação (zonas com erva baixa) (Herd & Willardson, 1985, Hutchinson *et al.*, 1989).

Medica *et al.* (1986) concluíram que a ingestão das larvas L3 de *Strongylus vulgaris* decorre na pastagem de erva alta uma vez que as larvas são mais atraídas pelas fezes e urinas e o facto da sua migração ser reduzida em distância.

2.13. Variações sazonais dos estádios de vida livre

De acordo com Herd (1986), os valores de eliminação de ovos não parecem ser afectados pela raça, prenhez ou lactação nos equinos mas sim pelos meses do ano no qual decorrem. Em Portugal, em observações realizadas por Madeira de Carvalho *et al.* (1997, 1999, 2001), foram registados valores mais elevados para ovos por grama em fezes recolhidas na Primavera e no Outono/Inverno. Todavia, em pastagens de regadio, o Verão pode constituir-se como uma importante estação na transmissão de *strongylídeos*.

Com a chegada dos meses mais frios, a quantidade de ovos eliminados diminuem até voltarem a aumentar novamente em Março (Murray, 2003). Estes níveis de eliminação serão tanto maiores quanto mais favoráveis forem os factores condicionantes e promotores do desenvolvimento larvar até ao estágio infectante L3: os anteriormente mencionados temperatura e humidade. Herd (1986a) afirma que com o aumento dos níveis de precipitação favorece-se também a sua deslocação, através do reforço da película de água que facilita a locomoção das larvas pelas folhas podendo-se observar um aumento do número de larvas infectantes na Primavera e Outono. O nível de contaminação da pastagem não é uniforme ao longo do ano. Em países temperados do norte ocorre um rápido desenvolvimento das formas de vida livre durante o fim da Primavera, Verão e início do Outono (Nielsen *et al.*, 2007).

Em Portugal, Madeira de Carvalho *et al.* (2005) relatam que a maior população larvar na erva ocorre em Março/ Abril e Novembro a Janeiro. No Inverno, em consequência das baixas temperaturas, este desenvolvimento é lento ou pode mesmo cessar por completo, no caso de as temperaturas serem muito reduzidas (Nielsen *et al.*, 2007).

No entanto, as pastagens no Inverno podem constituir uma fonte de infecção para os animais na próxima estação do pastoreio, uma vez que a longevidade larvar é óptima em temperaturas baixas (Reinemeyer, 2009).

Apoiados pelos estudos de Herd *et al.*, (1985); Slocombe *et al.*, (1987); Baudena *et al.*, (2000) e Madeira de Carvalho (2001) observamos que a distribuição anual da eliminação de ovos focais se fazer de forma mais ou menos regular e apresentar dois picos, um nos meses de Abril/Maio e outro nos meses de Setembro/Outubro.

Estes picos levam a crer que a transmissão em climas quentes será privilegiada durante as estações mais frias, enquanto durante os meses de Verão é bastante reduzida, excepto se os animais estiverem em pastagens de regadio (Courtney, 1999; Baudena *et al.*, 2000; Madeira de Carvalho 2001).

2.14. Fase endógena

A fase endógena inicia-se com a ingestão das larvas infestantes L3 e a sua migração para o intestino delgado, iniciando-se a fase parasitária com o desembainhamento das larvas L3 (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003). De acordo com o tipo de larva assim temos diferentes formas de evolução endógena.

A saída da larva realiza-se através de uma fissura transversal (*Strongylus vulgaris*, *S. edentatus* e

Trichostrongylus axei) ou de uma fissura longitudinal (*Cyathostomum s.l.*, *Tridontophorus spp.* e *Oesopagodontus robustus*), ambas na zona do esófago, processo que demora cerca de 90 minutos (Madeira de Carvalho, 2003a).

2.15. Epidemiologia dos estrongilídeos

Os estrongilídeos manifestam-se de forma muito heterogénea, significando que muitos animais estão pouco parasitados enquanto que outros estão muito parasitados, ou seja concentrando grande parte dos parasitas da população (Madeira de Carvalho, 2003a; Nielsen, Haaning & Olsen, 2006a).

Ao longo do tempo e com o uso recorrente de antihelmínticos, os grandes estrongilídeos perderam muita importância relativa, tendo estes medicamentos funcionado como um instrumento de selecção, conduzindo à hegemonia dos pequenos estrongilídeos.

Devido à sua capacidade de adaptação, assumiram um papel de grande importância e são actualmente os mais prevalentes e importantes na produção equina. Como já foi mencionado, embora tenham perdido relevância, os grandes estrongilídeos são de uma patogenicidade muito superior mantendo ainda o interesse na continuidade do seu estudo.

Com o passar do tempo, verificam-se percentagens relativas muito superiores de ciatostomíneos, rondando hoje os 80%-20% em relação aos estrongilíneos (Madeira de Carvalho, 2003). Já na década de 1990, Mair (1994) demonstrou que os ciatostomíneos são também responsáveis por elevados níveis de mortalidade e morbilidade, sendo este facto pouco valorizado por se assumir continuamente que o resultado de uma estrongilidose provinha sempre do conjunto das duas subfamílias e não apenas da acção de uma delas. Mais ainda, durante as suas migrações os estrongilíneos causam graves lesões em diferentes órgãos o que os torna muito mais patogénicos e prejudiciais que os ciatostomíneos.

Trabalhos de Stancampiano et al., (2010); e Mughini Gras et al., (2011) demonstram que as interacções entre as várias espécies têm um efeito modelador da abundância e a distribuição dos organismos parasitários. Os estrongilídeos intestinais apresentam localizações preferenciais em relação às diferentes porções do intestino grosso (Madeira de Carvalho, 1991; Gawor, 2000; Collobert-Laugier et al., 2002).

A sua prevalência é cada vez mais premente atingindo nalguns casos os 95% (Lyons & Tolliver, 2003; Hutchens & DiPietro, 1996) e podendo dar origem a estrongilidoses cujas taxas de mortalidade estão compreendidas entre os 40-70% (Nielsen, Kaplan, Thamsborg, Monrad & Olsen, 2007).

2.16. Controlo da estrongilidose

Os programas de controlo das populações de estrongilídeos não se destinam a eliminá-los por completo. Este resultado pode até nem ser desejável (Reinemeyer, 2008). O que se pretende é manter um nível de infecção que mantenha o sistema imunitário do equídeo estimulado para que se reduza a probabilidade da ocorrência de uma estrongilidose clínica, (Lyons et al., 2000).

Desta forma pretende-se que todas as medidas de manejo que se tomem no sentido de controlar a população de parasitas o façam no sentido de atingir um equilíbrio sustentável no hospedeiro e uma redução da contaminação da pastagem pelas formas infectantes (Reynemeyer, 2008). Se este último for conseguido com sucesso o novo ciclo de reparasitação sofrerá uma redução e originará cargas mais baixas, que por sua vez irão originar contaminações ambientais mais baixas também.

Nas últimas décadas o controlo tem sido feito com recurso exclusivo a fármacos, tendo o uso excessivo destes produtos levado a problemas de vária ordem:

1. A redução da percentagem relativa dos estrongilíneos
2. O aumento da percentagem relativa dos ciatostomíneos
3. O desenvolvimento de resistência aos fármacos por parte destes últimos, (Nielsen & Kaplan, 2008).

O aparecimento destes “novos” parasitas, no mesmo grau de patogenicidade, da mesma forma ubíquos mas agora resistentes aos fármacos, conduziu à reflexão sobre as recomendações tradicionais para o controlo dos parasitas gastrointestinais.

Actualmente, ainda é comum a desparasitação de um grupo inteira, utilizando fármacos sobre os quais se desconhece a eficiência sobre o tipo de parasita que se pretende eliminar.

Estas noções estão em total desacordo com a realidade da parasitologia equina, e exige-se portanto um maior envolvimento dos agentes responsáveis no controlo parasitário e na implementação de medidas que tornem esse controlo sustentável a longo prazo.

A principal razão pela qual os programas de controlo têm falhado é o desenvolvimento de resistência aos fármacos (Varady et al., 2004). Começaram na fenotiazina e por sucessão temporal chegaram mais recentemente ao pirantel (Nielsen *et al.*, 2010a). Nesta corrida entre o agente desparasitante e o parasita, os grandes estrongilídeos têm saído claramente derrotados. No entanto os, ciatostomíneos, pela sua grande capacidade de adaptação já apresentam resistência a todas as classes de antihelmínticos com excepção das lactonas macrocíclicas (Lyons *et al.*, 2000).

A sua grande capacidade adaptativa advém de factores já mencionados, o seu curto período pré-patente, a sua capacidade de enquistar nas paredes intestinais e o seu pequeno intervalo entre gerações fazem os ciatostomíneos particularmente propensos ao desenvolvimento de resistências (Murray, 2003).

O desenvolvimento de resistência às lactonas macrocíclicas parece ser apenas uma questão de tempo, o que nos leva a pensar sobre o futuro.

A solução poderá passar pelo controlo biológico e nesse campo temos resultados promissores. Larsen *et al.* (1995, 1997, 2000), demonstraram a capacidade do fungo *D. flagrans* de sobreviver à passagem pelo tracto gastrintestinal dos equídeos e, posteriormente, devido à sua capacidade de prender as larvas infectantes, reduzir o número de larvas que se desenvolvem nas fezes excretadas.

O objectivo principal deste tipo de abordagem é a redução de larvas infectantes livres na

pastagem, reduzindo portanto a quantidade ingerida das mesmas.

Este tipo de controlo já foi testado em Portugal, conseguindo-se uma boa articulação com os antihelmínticos usados na exploração, ao mesmo tempo que se promoveu uma redução das formas parasitárias das fezes dos equídeos tratados e consequentemente na pastagem (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007).

Algumas práticas de manejo estavam já contempladas como por exemplo a remoção das fezes e limpeza das pastagens, queimando as fezes ou procedendo à sua compostagem, assim como a rotação de pastagens ou a alternância na pastagem entre equídeos e ruminantes (Herd, 1986; Eysker *et al.*, 1986), mas obtiveram resultados que não conseguiram demover do sucesso que os fármacos prometiam, e em tempos tiveram.

Outra alternativa estará em seleccionar as populações de estrongilídeos contra a resistência, mas exige um grande desenvolvimento no estudo de marcadores para que se possam diferenciar os cavalos mais susceptíveis dos menos susceptíveis (Reynemeyer, 1999).

Testes convencionais de PCR têm vindo a ser desenvolvidos para a identificação de resistência aos antihelmínticos nas espécies de nemátodes parasitas de grandes ruminantes bem como nos equinos (von Samson, 2006). Até há data a única resistência detectável é aos Benzimidazóis, no entanto outros avanços estão a ser desenvolvidos nomeadamente no campo das lactonas macrocíclicas, com o objectivo de prolongar a sua eficiência por mais tempo, dando o tempo necessário para descobrir novas alternativas ou simplesmente para aperfeiçoar as já existentes.

2.17. Consanguinidade

O conceito de consanguinidade refere-se ao grau de proximidade genética entre os diversos indivíduos de uma população e à respectiva reprodução. É um conceito bastante antigo, estando na base, por exemplo, do direito canónico artigo 1091º:

“Na linha directa de parentesco, o casamento é inválido entre todos os ascendentes e descendentes (legítimos e naturais)

Na linha colateral, o casamento é inválido até ao 4º grau (primos directos)”

Darwin (1868) afirmou que as consequências de cruzamentos na mesma linhagem levados a cabo por muito tempo, têm efeitos marcantes na constituição, vigor e fertilidade da descendência, que pode apresentar malformações.

Numa população em que todos os indivíduos são parentes entre si, não é possível eliminar a consanguinidade resultante na descendência, sendo necessária uma rigorosa monitorização dos futuros pares reprodutores no sentido de minimizá-la.

As consequências principais da ocorrência de consanguinidade são o aumento da homozigotia, depressão consanguínea e, na generalidade, uma perda de variabilidade genética levando a uma uniformização da população e, por outro lado, a uma perda de capacidade de adaptação. O objectivo de conservação genética é preservar a variabilidade dentro de uma população para garantir uma boa correlação entre variação genética e viabilidade da população (Hall & Bradley,

1995).

A consanguinidade no Cavalo do Sorraia é um dos casos mais interessantes nas espécies pecuárias nacionais. Esta raça teve origem em apenas 11 fundadores. Após cerca de 8 décadas de reprodução sem introdução de novos indivíduos a população apresenta um grave problema de consanguinidade, fazendo sentido procurar a influência que os elevados níveis deste parâmetro genético terão no parasitismo gastrointestinal.

O cavalo do Sorraia é uma raça com características particulares, que foi recuperado e mantido com o objectivo de preservar um tipo de equinos considerados representativos do ancestral cavalo ibérico, a partir da qual várias raças de cavalos domésticos podem ter derivado, e que provavelmente existiu na Península Ibérica desde o período do Paleolítico (d'Andrade 1926, 1937, 1945).

Devido ao alto grau de consanguinidade, os Sorraias apresentam níveis inferiores de fertilidade, tanto masculina como feminina, assim como de sobrevivência dos poldros (Kjöllerström et al., 2011). Pretendemos, com este estudo, verificar se a consanguinidade também tem influência na susceptibilidade ao parasitismo ou se o previne de alguma forma.

3. Caracterização da área de estudo

A Coudelaria de Alter do Chão insere-se no Município de Alter do Chão, uma região do Alentejo pertencente ao Distrito de Portalegre.

O Município dista 33 km da capital de distrito e tem 361 km². Confinha com os concelhos do Crato a nordeste, Ponte-de-Sôr a noroeste, Avis a sudoeste e Fronteira e Monforte a sul. O concelho é constituído por quatro freguesias: Alter do Chão, Cunheira, Chancelaria e Seda.

A coudelaria tem a sua localização nos 39°13'19,70" Norte e 7°41'16,30" Oeste (figura 7) e representa um importante papel na economia do concelho na medida em que é um factor gerador de postos de trabalho, bem como pedra basilar na história local.



Figura 7 – Coudelaria de Alter do Chão (instalações principais)
Adaptado do Google Earth

3.1. Breve nota histórica

A coudelaria surge num tempo influenciado pela disponibilidade de recursos e pelo interesse na implantação de uma política coudélica. A 9 de Dezembro de 1748 é fundada por D. João V, “O Magnânimo”, e recebe a designação de berço e solar da raça Lusitano de Alter Real. Embora tendo sido fundada por D. João V, o grande impulsionador é o seu filho D. José que se encarrega de mandar construir as primeiras instalações e do assento agrícola e de pastoreio. A eguada inicial é formada por 200 animais Andaluzes, que são seleccionados por forma a obter grandes desempenhos na disciplina de Alta Escola. Durante as Invasões Francesas e o posterior Domínio Inglês a coudelaria sofre o risco de extinção, devido ao facto de os franceses levarem muitos dos animais para substituir os seus e os ingleses fazerem o mesmo. Embora estes não tenham sido os eventos que mais arriscaram a sua existência, uma sequência de cruzamentos desastrosos com as raças Árabe, Normanda e Hanoveriana arriscaram o produto e a razão de existência da Coudelaria de Alter Real. Com o advento da República, a Coudelaria passa sucessivamente pela tutela de vários ministérios e, em 1942, regressa-se às origens, trazendo de volta o sangue Andaluz, através da intervenção do Dr. Ruy d’Andrade. O esforço é coroado de sucesso e no ano de 1996 Coudelaria de Alter do Chão reabre de novo ao público com o propósito de preservar um

património histórico e genético iniciado por D. João V 250 anos antes, (adaptado de www.alterreal.pt)

3.2. Caracterização climática

Esta caracterização foi feita utilizando os dados da estação meteorológica de Portalegre, 39°17' Norte e 7°41' Oeste, dos últimos 30 anos.

Recorremos às classificações de KÖPPEN e THORNTHWAITE:

- KÖPPEN: Csa – Clima temperado com Verão seco e quente
- THORNTHWAITE: B1B'2s2a' – Clima húmido, mesotérmico, com grande deficiência de água no Verão, com nula ou pequena concentração da eficiência térmica.

Em virtude das classificações anteriores e com recurso aos dados já mencionados são construídos dois gráficos, o balanço hídrico e um gráfico ombrotérmico de Gaussen que caracterizam a área de estudo quanto à Temperatura e Precipitação bem como a presença e disponibilidade de água no solo.

Estes gráficos ilustram as condições verificadas bem como as consequências. No primeiro gráfico (gráfico 1) nota-se a existência da estação seca do Verão característica do clima mediterrâneo, onde as temperaturas mais altas verificam também menor precipitação. Como consequência deste primeiro gráfico temos o segundo (gráfico 2) que nos demonstra o balanço hídrico ao longo

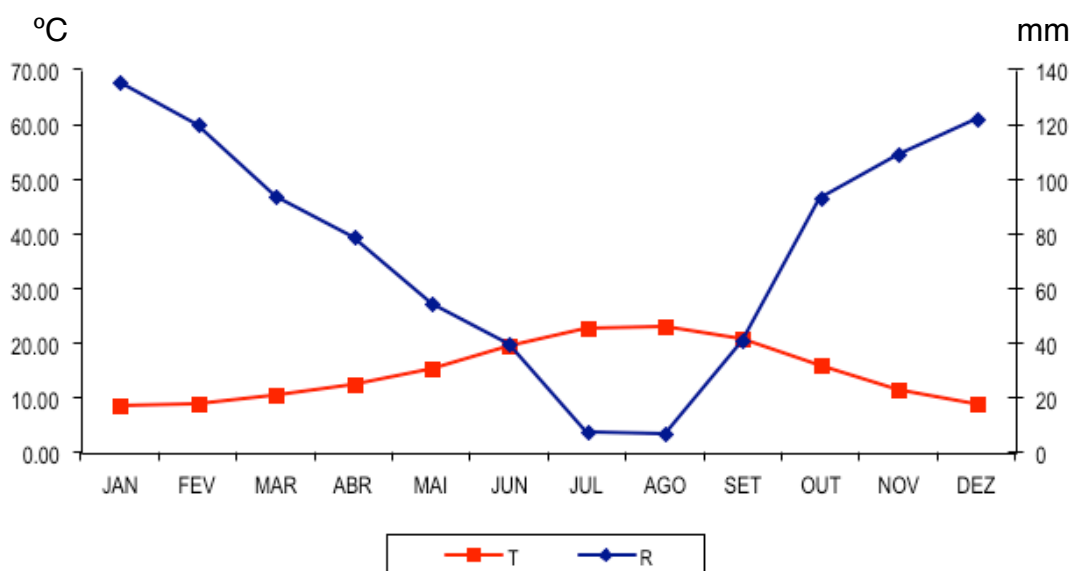


Gráfico 1 - Diagrama Ombrotérmico de Gaussen (estação de Portalegre). Podemos observar a evolução da temperatura média anual em °C (vermelho) e da precipitação em mm (azul).

do ano. O resultado principal deste balanço é a escassez de água no solo e a presença ou ausência de erva, factor que se provará bastante importante ao longo deste estudo uma vez que a disponibilidade de erva e a actividade da água são dois factores relevantes no ciclo parasitológico e se não apenas por isso então também porque em animais herbívoros a disponibilidade de erva é o factor mais relevante na sua alimentação.

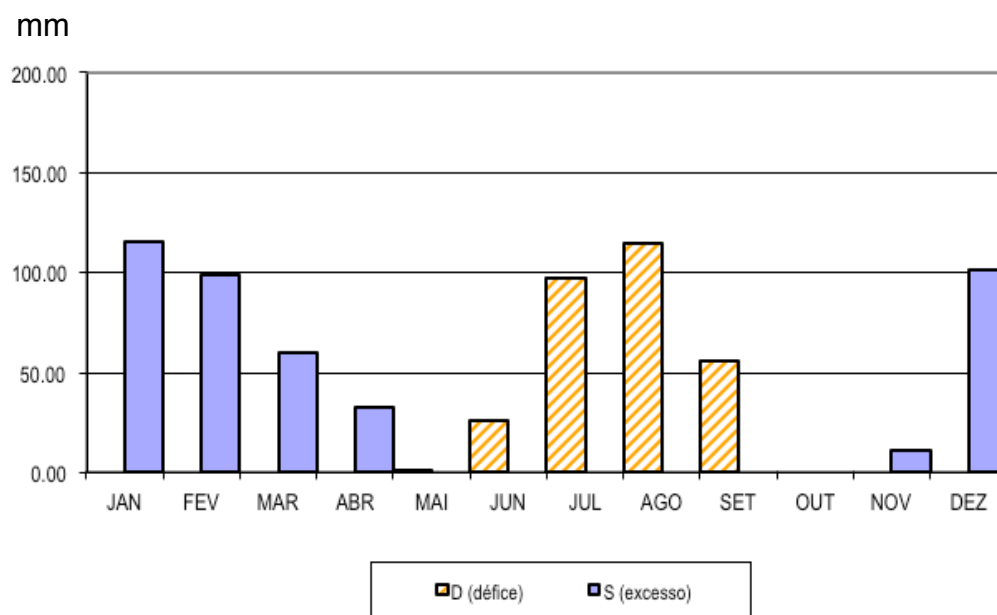


Gráfico 2 - Balanço Hídrico anual (estação de Portalegre). Podemos observar o déficit (amarelo) hídrico e o excesso (azul) ao longo do ano.

4. Caracterização das espécies e raças presentes no *Estudo*

4.1. Cavalo de Przewalski (*Equus ferus przewalskii*, Poliakov 1881)

4.1.1. Origem e evolução



Figura 8 - Cavalo de Przewalski (original)

O Cavalo de Przewalski (figura 8) deve o nome ao seu descobridor, o explorador russo N. M. Przewalski em 1881. Este tipo de equídeo já tinha sido avistado antes e já fora assinalado como documentam gravuras rupestres e pinturas decorativas oriundas de Altamira e Mas D’Azil onde o grande número de pinturas sugere a grande abundância de cavalos selvagens. Embora não muito fiáveis estas obras mostram características muito específicas sustentando a crença de que o cavalo selvagem presente fosse mesmo o Cavalo de Przewalski. A primeira referência escrita da existência destes cavalos é-nos

trazida por Bodowa um monge tibetano que viveu por volta de 900 d.C. e mais tarde na obra “A História Secreta dos Mongóis” onde se relata que, aquando do seu *raid* contra Tangut, o caminho de Genghis Khan fora cruzado por cavalos selvagens, o que assustou o seu próprio cavalo e causou a sua queda. Depois desaparecem todos os registos até cerca de 1630 quando um exemplar é oferecido ao Imperador da Manchúria (Inge and Jan Bouman, 1994). Devido aos inúmeros autores que o procuraram e escreveram sobre ele acabou por ganhar vários nomes Take, Tachi, Statur, Dzurlikadu, Surtaken ou Jauwat entre outros. Viria a ser redescoberto nas Montanhas de Tachim Schara Nuuru, cuja tradução é “Montanhas do cavalo Amarelo”, na orla Oeste do Deserto de Gobi pelo Coronel Przewalski. O Cavalo de Przewalski, ao contrário de outros que evoluíram, tem-se mantido inalterado desde a era glacial. Este facto deverá ser atribuído à falta de possibilidade de cruzamento com outros que não os da mesma espécie, uma vez que vivem em grupos familiares muito próximos e fechados bem como o facto de viverem num local de condições tão difíceis que outros não chegam ou chegando não sobrevivem o suficiente para gerar populações sustentáveis.

Foi classificado em 1881 como *Equus ferus Przewalskii*, (Poliakov, 1881) pelo que não consta do Sistema Naturæ de Lineu.

4.1.2. Características gerais

Os Cavalos de Przewalski são equídeos de estatura relativamente baixa atingindo 138 -146 cm de altura ao garrote para os machos e 134 -140 para as éguas. O seu peso médio ronda os 280 kg a partir dos cinco anos.

São de conformação robusta e compacta com pescoço e apêndices curtos. Heck (1970) encara os apêndices longilíneos como um sinal de domesticação pelo que não seria de esperar que estes animais os possuíssem. No entanto outros autores como Mazak e Dobroruka (1967) entendem como exagerada esta observação. A pelagem caracteriza-se por um amarelo acinzentado mais escuro no pescoço e cabeça e marcadamente mais claros no ventre.

Nos membros são visíveis zebruras desde o tarso (carpo) até ao metatarso (metacarpo). Contêm também o característico risca de mulo desde a crineira até à cauda, mais proeminente nos adultos do que nos juvenis.

A crineira varia de castanho escuro a preto, tem início entre as orelhas e prossegue até ao garrote, não tendo topete. Constantemente erecta, muda anualmente com o crescimento de pêlos do exterior para o interior. Na cauda verificam-se dois tipos de pêlos, curtos e claros (cor da pelagem) e compridos (cor da crineira) originando uma diferença de coloração que é também uma forma de distinção de linhagens.

4.1.3. Posição sistemática

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Perissodactyla

Família: Equidæ, Gray 1821

Género: Equus, Linnæus, 1758

Espécie: Equus ferus, Poliakov, 1881

4.1.4. Distribuição Actual

Presentemente existe uma população fruto da reintrodução em estado selvagem no deserto da Dzungária na província chinesa de Xinjiang-Uygur. Tenta-se a reintrodução através de semi-reservas em Takhi-tal, Askania Nova e Hustain Nuuru nas montanhas Chentai. Esta última exige um cuidado especial pois, embora limitada a Sul pelo rio Tuul, os restantes limites são difíceis de controlar devido à natureza acidentada do terreno, podendo assumir-se que alguns animais conseguirão atravessar as fronteiras do parque com sucesso, estando sujeitos à caça, à predação e outros factores que podem prejudicar o esforço de preservação.

4.2. Cavalo Alter Real (*Equus caballus*, Linnæus, 1758)

4.2.1. Origem e evolução



Figura 9 - Cavalo Lusitano de Alter Real (original)

O cavalo Lusitano deve o seu nome ao povo que habitou parte do território português, os Lusitanos. A criação destes animais remonta às antigas províncias da Lusitânia e da Bética, originando cavalos muito semelhantes entre si em termos morfo-funcionais em ambas as regiões. Estes cavalos eram criados ao longo das bacias do Tejo, Guadiana e Guadalquivir. A designação de Cavalo Lusitano é de facto atribuída a cavalos nascidos e criados em Portugal enquanto que os nascidos e criados na antiga Bética ou Andaluzia ficaram com a designação da actual região, Andaluzes. Em 1942 a Secção Coudélica da Estação Zooténica Nacional passou a utilizar a

designação de cavalo Lusitano para todos aqueles que verificassem as características morfo-funcionais da raça e tivessem nascido em Portugal.

Na década de 60, mais propriamente em 1966, por falta de consenso sobre a classificação, características e valor da raça, organizou-se uma reunião entre os representantes dos criadores portugueses e dos criadores espanhóis e reservou-se a designação de Lusitano e Andaluz de acordo com a origem do animal. No ano seguinte viria a fundar-se o Livro Genealógico Português de Equinos, contendo este a raça Lusitana mas também outras que estivessem representadas em Portugal, como era o caso das raças Árabe, Puro Sangue Inglês e Anglo-árabe. Actualmente são conhecidos como Puro Sangue Lusitano e Pura Raza Espanhola. Uma vez que são morfologicamente muito semelhantes e partilham a mesma origem existe, por vezes, a tentação de definir o Lusitano e o Andaluz como uma raça apenas, o cavalo Peninsular. A designação é pouco precisa e gera alguma controvérsia tendo-se optado, quando se pretende afirmar sobre a influência que estas duas raças têm noutras em virtude da conjuntura histórica, o termo de Cavalo Ibérico.

Em relação ao Cavalo Alter Real (figura 9) sabemos que tem origem em duzentas éguas Andaluzas compradas por D. João V aquando da fundação da Coudelaria de Alter Real para a criação de uma nova raça. Em termos de evolução não há muito mais a acrescentar ao já referido atrás. Alguns cruzamentos puseram em risco o Alter Real mas a reintrodução de sangue Andaluz trouxe-o de novo ao padrão do Cavalo Ibérico.

4.2.2. Características Gerais

De acordo com Monteiro (1985), o Cavalo Alter Real é um animal mediolíneo e rectilíneo, com peso médio a partir dos quatro anos que ronda os 450-500 kg bem como uma estatura de 1,52 m ao garrote para éguas e 1,54 m para cavalos. O padrão prevê que o animal possa crescer até ao 1,62 m.

Devido à sua rusticidade e versatilidade, é um animal bem adaptado a todos os climas e, não só apto como bom, em todos os terrenos e modalidades hípcas.

Tem uma cabeça de forma rectangular, de comprimento médio e de perfil sub-convexo, garrote bem destacado acompanhado de um tronco bem desenvolvido, costado ligeiramente arredondado e peito amplo.

Os membros são longilíneos, no membro anterior tendo um braço inclinado, um antebraço apurado e joelhos secos. No membro posterior é ligeiramente acurvilhado.

O Lusitano mostra-se com quase todas as pelagens, no entanto o Alter Real apresenta-se quase exclusivamente em castanho. É um animal dócil, sóbrio e resistente, de temperamento sanguíneo, de grande aptidão para o Ensino devido à sua capacidade de aprendizagem e ligação ao cavaleiro.

4.2.3. Posição Sistemática

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Perissodactyla

Família: Equidæ, Gray 1821

Género: Equus, Linnæus, 1758

Espécie: Equus caballus, Linnæus, 1758

4.2.4. Distribuição Actual

Actualmente no Livro Genealógico já podem ser inscritos animais que, respeitando as características morfo-funcionais da raça e estabelecendo a devida filiação, não nasceram em Portugal. O Cavalo Lusitano devido às suas características e valor é actualmente um cavalo cosmopolita e muito apreciado sendo produzido e desenvolvido em Portugal mas também noutros pontos do globo como o Brasil, México e Canadá.

4.3. Cavalo do Sorraia (*Equus caballus*, Linnæus, 1758)

4.3.1. Origem e evolução



Figura 10 - Cavalo do Sorraia (original)

Esta raça autóctone portuguesa deve o seu nome ao local onde foram encontrados os animais utilizados para a sua recuperação, próximos da região de Coruche, ao longo das margens do rio Sorraia. O esforço de recuperação deve-se a um homem, o Dr. Ruy d'Andrade que por volta de 1920 reparou numa manada de outro proprietário constituída por cavalos de uma pelagem cinza-rato mas também possuindo a lista de mulo bem como

zebruras nos membros, o que despertou o seu interesse. Actualmente conhecidos como Sorraias (figura 10) admite-se também que já tenham sido conhecidos como zebros e em Espanha são frequentemente apontados como o mesmo tipo de equino representado na raça Marismaña, assim conhecida por existir próximo das marismas do Guadalquivir. A sua origem efectiva é incerta uma vez que foi este hipólogo que iniciou o esforço de recuperação, bem como a documentação a que actualmente temos acesso. Ele refere que, devido às características que estes animais possuem, é passível de assumir que fossem os antepassados do cavalo Lusitano, portanto a reminiscência do cavalo pré-histórico da Península Ibérica e que assim se manteve por falta de cruzamento com outras raças. Aquando da morte do proprietário original, o Dr. Ruy d'Andrade fez o possível por reunir o maior número de animais tendo conseguido 7 éguas e 3 machos e instalou-os na sua Herdade da Agolada. Os Sorraias actuais são os descendentes destes 10 animais e de outro adquirido na Argentina cerca de uma década depois. Há ainda que reconhecer mais um fundador uma vez que uma das éguas já se encontrava prenha aquando da sua partida para a Herdade da Agolada desconhecendo-se no entanto a identidade do cavalo. A partir de certa altura passam a ser marcados a ferro e numerados na espádua direita. Mais tarde em 1975 e por força da conjuntura nacional a eguada foi movida para a Coudelaria de Alter e mais tarde restituída aos proprietários, agora na Herdade da Font'Alva. No entanto são oferecidos à Coudelaria de Alter 4 animais, 2 machos e 2 fêmeas, que serão os fundadores de uma nova sub-população. Actualmente o esforço de conservação mantém-se mas luta com graves problemas de consanguinidade vindo este a ser também um dos parâmetros em estudo neste trabalho (adaptado de www.aicsorraia.fc.ul.pt)

4.3.2. Características Gerais

As características aqui mencionadas são as tomadas em consideração para a classificação dos animais de acordo com o Padrão da raça, incluído no Livro Genealógico. São cavalos de menores dimensões com pesos a rondar os 300-350 kg e 1,48 m ao garrote para cavalos e 1,44 m para éguas. De perfil subconvexilíneo, são animais sobre o pernalta de ossatura pouco volumosa. Aceitam bem os rigores do Verão seco, adoptando uma conformação mulina, magra, mas quando em tempo de excesso arredondam. Cabeça rectangular seca e perfil subconvexo, crânio inclinado em relação à face que é bastante comprida.

Aceitam vários tipos de pelagem muito embora se veja quase exclusivamente dois tipos, o pardo rato e o pardo amarelo. São zebrados nos membros anteriores (carpo e metacarpo) e posteriores (tarso e metatarso) e possuem risca de mulo. Possuem crinas muito compridas e vistosas, bicolores com os pelos a escurecerem à medida que se aproximam da linha média. Cabos sempre pretos, as pontas das orelhas e focinho sempre em tons escuros.

Animais pouco seleccionados, são dotados de um temperamento difícil, ariscos no desbaste mas tolerantes e conformados no trabalho. Reagem com agilidade às ajudas e mostram grande vivacidade. As suas aptidões ficam limitadas a trabalho de sela e pequenos trabalhos agrícolas.

Membros harmoniosos e pouco musculados com tendões destacados e ausência de pelo remontante e de machinhos.

4.3.3. Posição Sistemática

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Perissodactyla

Família: Equidæ, Gray 1821

Género: Equus, Linnæus, 1758

Espécie: *Equus caballus*, Linnæus, 1758

4.3.4. Distribuição Actual

Actualmente, e após a morte do Eng. Fernando Sommer d'Andrade, o efectivo que se encontrava na Herdade de Font'Alva foi dividido pelos seus filhos ficando, no entanto, o maior grupo no local de origem. Desde 1976 que há uma sub-população na Alemanha fundada pelo criador Prof. Schäfer a partir de seis animais, três éguas e três machos, que viveu sobre si mesma até cerca de 1997, altura em que foram comprados mais animais. Juntamente com a sub-população da Coudelaria de Alter fundada em 1975, perfazem um total de três núcleos principais na Europa estando, dois em Portugal e um na Alemanha. Em 1985 foram adquiridas 4 éguas pelo Dr. Manuel Abecassis, que deram origem a outro núcleo importante em Portugal mas que, entretanto se desmembrou. Mais recentemente foram desenvolvidos mais núcleos, não atingindo no entanto a dimensão dos anteriormente mencionados.

5. Material e métodos

No presente capítulo apresenta-se e esclarece-se a metodologia aplicada à elaboração deste trabalho bem como os materiais necessários à sua execução e os animais utilizados em cada colheita.

Os estudos respeitantes a cada espécie/raça assentam no conhecimento de todos os indivíduos disponíveis (em particular o conhecimento das idades e da consanguinidade individual), e na aleatoriedade na recolha de amostras para uma caracterização abrangente e o menos parcial possível.

5.1. Material

5.1.1. Descrição dos núcleos em estudo

Para a descrição dos núcleos em estudo vamo-nos focar em alguns parâmetros de cada um: efectivo e identificação dos animais considerados, o regime de produção em que se encontram, as instalações de que dispõem, a alimentação que lhes é fornecida ao longo do ano e, por fim, algumas considerações sobre as relações intra-grupo e comportamento geral baseados nas observações efectuadas durante o trabalho.

5.1.1.1. Núcleo de Cavalos de Przewalski

Na coudelaria de Alter encontram-se quatro Cavalos de Przewalski, três machos e uma fêmea. O mais velho - Sirano - está separado dos restantes animais e em condições diferentes, pelo que não consta do estudo. Os restantes três, Brasão e Desejado e a égua Susannah, constituem a população amostrada no estudo. Os dois machos, Brasão e o Desejado, ambos filhos de Sirano, já nasceram na Coudelaria de Alter (em 2006 e 2009) e são, respectivamente, filhos de Virgínia e Suzannah. Vivem em regime extensivo e com o menor contacto humano possível para manter o seu estado selvagem.

No decorrer do estudo não mostraram grande interesse pela nossa presença ou acções excepto por raras excepções e breves períodos de tempo em que reagiram aos sons da máquina fotográfica. No restante não reagiram de forma agressiva como seria de esperar de animais selvagens.

Dispõem de um abrigo para dias de condições atmosféricas mais adversas, onde também lhes é colocado o alimento composto nos períodos de maior escassez na pastagem, nomeadamente os já mencionados meses de Verão caracterizados por um grande défice hídrico. Andam sempre juntos num grupo familiar bastante fechado, aliás um dos pontos característicos da espécie e é de notar alguma dominância por parte do Brasão, o macho mais velho. Até à data da última visita feita à Coudelaria não havia registo de tentativas de acasalamento com a égua Susanah por parte de qualquer dos machos que com ela partilham o cercado.

5.1.1.2. Núcleo Sorraia

Durante grande parte do trabalho desenvolvido a eguada foi composta por 13 elementos, tendo todos eles sido incluídos no estudo. Mais recentemente, durante a última recolha, foram adicionados 2 novos elementos à eguada, tendo um deles (307 – Catita) sido incluído no presente estudo.

Ao contrário do núcleo de Cavalos de Przewalski os núcleos Sorraia e Alter são grandes demais para que se apresente uma descrição exaustiva dos elementos e da respectiva filiação.

Como é sabido, a raça Sorraia apresenta valores de consanguinidade muito elevados, sendo esse aliás um dos factores em estudo, pelo que é fácil de deduzir que as relações de parentesco entre os indivíduos são muito elevadas.

Os animais encontram-se em regime extensivo, numa parcela com uma zona de campo aberto e uma zona moderadamente arborizada, onde podem encontrar refúgio. Têm à disposição três pontos de água e, à semelhança dos Cavalos de Przewalski, têm também um ponto onde lhes é distribuído alimento composto diariamente. A quantidade disponibilizada varia ao longo do ano de acordo com a disponibilidade de erva na pastagem, suplementando-se mais no Verão e início de Outono e reduzindo no restante Outono, Inverno e Primavera.

Observou-se que as éguas 186 – (Viajada) e 204 – (Viajata), ambas nascidas em 2002, exercem alguma dominância sobre as restantes, em particular nas horas de acesso ao alimento composto. Há também um elemento claramente excluído, 141 – (Tramóia). Curiosamente esta égua apresenta-se de pelagem preta (por não apresentar o alelo dominante para o gene Dun, responsável pela diluição da coloração da pelagem excepto nas crinas e cabos), algo claramente diferente das restantes éguas (que têm a característica pelagem pardo-rato da raça, homozigóticas ou heterozigóticas para aquele gene). Mais recentemente, e após a introdução destas duas novas éguas, a Tramóia deixou de ser o centro das atenções das atitudes agressivas das restantes, e estes dois novos elementos parecem sofrer um pouco mais com a hierarquia estabelecida no grupo. No entanto, julgamos que a longo prazo serão mais bem aceites do que a Tramóia uma vez que elas deixarão de ser as mais novas na eguada mas a Tramóia nunca deixará de ser preta.

5.1.1.3. Núcleo Alter

A eguada é composta por 59 elementos dos quais 51 constam deste estudo. Encontram-se em regime semi-extensivo, regressando todos os dias às instalações do Pátio das Éguas, entre as 10-15 horas, para serem observadas e suplementadas com alimento composto. Têm uma enorme pastagem à sua disposição e uma vez que percorrem grandes distâncias, têm vários comedouros espalhados pelo percurso bem como vários pontos de água. Durante a época da bolota despendem grande parte do seu tempo de pastagem à procura das mesmas, pelo que parecem ter desenvolvido um enorme gosto por este fruto. Durante a época de escassez de pastagem, e à semelhança da eguada Sorraia, são mais suplementadas. Durante o mês de Agosto, excepcionalmente, não regressam diariamente ao Pátio das Éguas mantendo-se a campo o mês

todo.

No que se refere aos valores de consanguinidade, esta população tem uma situação pouco preocupante, embora tenham sido incluídas neste estudo éguas com níveis mais elevados para este parâmetro: como a 207 – (Viheira) com um nível de consanguinidade individual de 23,3% ou a 032 – (Ohufa), com 27,1%.

Ao longo do ano, nomeadamente em Junho e em Agosto, foi necessário fazer as recolhas a campo uma vez que não foram recolhidas às instalações.

Uma vez que não tivemos um acompanhamento muito longo da eguada fora das instalações, não é possível descrever o seu comportamento, nomeadamente nos padrões de deslocação ou na estratificação da eguada, muito embora tenhamos a certeza que ela existe.

5.2. Métodos

Neste estudo incluem-se resultados de 68 animais (n=68), sendo 51 Alter, 3 Przewalski e 14 Sorraias. No caso dos Cavalos de Przewalski, todas as recolhas incluíram uma amostragem completa da população. No caso das Sorraias toda a população foi amostrada embora não na mesma amostra, uma vez que se fizeram 7 recolhas para 14 indivíduos. Finalmente, no caso das Alter, a amostragem ficou-se pelas 51 éguas de uma população de 59. Nestas a aleatoriedade na recolha impediu-nos de escolher os indivíduos que ainda não tinham sido estudados.

O número de colheitas realizado foi directamente relacionado com o tipo de exploração em estudo, estratificação etária dos hospedeiros e dimensão da população (Madeira de Carvalho, 2007).

De acordo com Madeira de Carvalho (2007), alguns autores referem que uma amostra considerada adequada abrange 10-20% do total de animais, sobretudo se o estudo incidir em equídeos jovens. No entanto de acordo com Eysker *et al.* (2007), este método de colheita deve ser adaptado à estratificação etária da população de forma a obter-se um resultado mais fidedigno, dado os equídeos mais jovens estarem mais susceptíveis a estarem infectados.

As recolhas foram efectuadas no período compreendido entre Maio de 2010 e Abril de 2011, tendo sido efectuadas as devidas análises no primeiro dia útil posterior à recolha, com a excepção dos meses de Julho e de Janeiro, em que as análises se efectuaram quinze dias após a recolha. Nestes meses as amostras foram conservadas em frigorífico a 4°C.

Mensalmente foram recolhidas vinte amostras distribuídas da seguinte forma:

- 10 para o núcleo Alter (as recolhas foram feitas directamente do recto para assegurar um grau de contaminação o mais baixo possível);
- 3 para o núcleo de Cavalos de Przewalski;
- 7 para o núcleo de Sorraias (as recolhas foram feitas no campo, mediante observação para assegurar a maior frescura possível das fezes bem como uma identificação fidedigna do animal que produzia a amostra).



Figura 11 - Recolha no campo (original)

As amostras fecais recolhidas eram posteriormente colocadas em saco de plástico transparente marcado com a inicial do núcleo (L, PRZ ou S) e o número de identificação do animal, marcado a fogo no pescoço (figuras 11 e 12). No caso dos Cavalos de Przewalski indicava-se no saco o nome do animal (ex: PRZ - Brasão) uma vez que a identificação era relativamente fácil com base nas características externas do animal. Os sacos com as amostras eram colocados numa mala térmica Campingaz® e trazidas para Lisboa para a Faculdade de Medicina Veterinária (Laboratório de Parasitologia e Parasitárias) onde iriam ser analisadas.



Figura 12 - Identificação da recolha (original)



Figura 13 - Análise das amostras (original)

Já no Laboratório o número de identificação do animal e o número de ordem da amostra acompanhavam sempre a amostra ao longo das diferentes análises para se manter a capacidade de rastreabilidade (figura 13).

Este cuidado mostrou-se particularmente importante na elaboração das coproculturas uma vez que permaneciam em estufa entre 14-17 dias. Teria também sido importante na elaboração de novas análises em caso de algum erro processual que inviabilizasse o resultado, o que felizmente não veio a ser necessário.

Por forma a analisar as amostras

procedeu-se a um conjunto de testes cujos protocolos se apresentam nos Anexos 2, 3, 4 e 5 e que vamos dividir em dois grupos.

No primeiro grupo descreveremos as técnicas de diagnóstico coprológico (este grupo será também subdividido devido à natureza dos testes), e no segundo grupo as Coproculturas.

5.2.1. Diagnóstico coprológico

5.2.1.1. Métodos qualitativos

Com recurso a um microscópio Olympus®, modelo CX-31, determinámos que organismos estavam presentes na amostra utilizando o método de Willis modificado, (Anexo 2), através dos processos de flutuação e sedimentação. No processo de Flutuação colocou-se a amostra numa solução saturada, composta por três partes de água para uma de açúcar, que fazia com que os oocistos, ovos de Cétodes e Nemátodes, por terem densidades inferiores à da solução, ascendessem à superfície e aderissem a uma lâmina colocada no tubo (Medite, com 23,8x50x0,15 mm).

Seguidamente fazia-se uma preparação de lâmina sobre lamela (Klinipath 26x76x1 mm) e

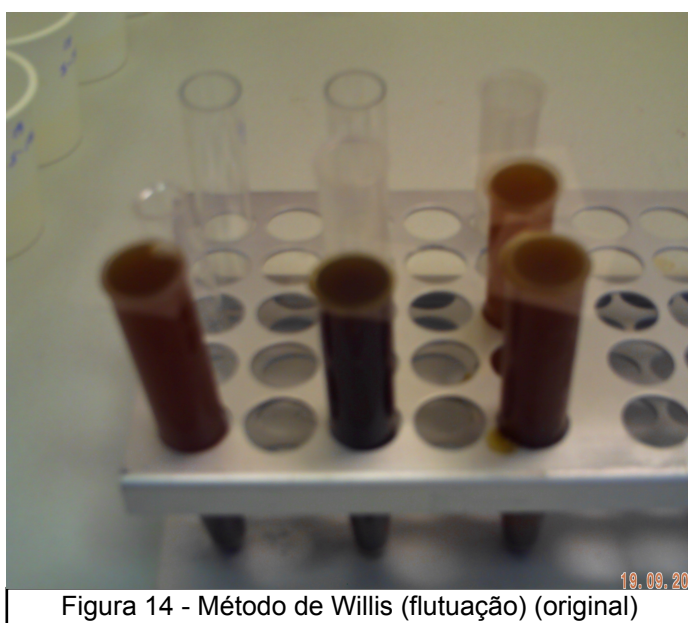


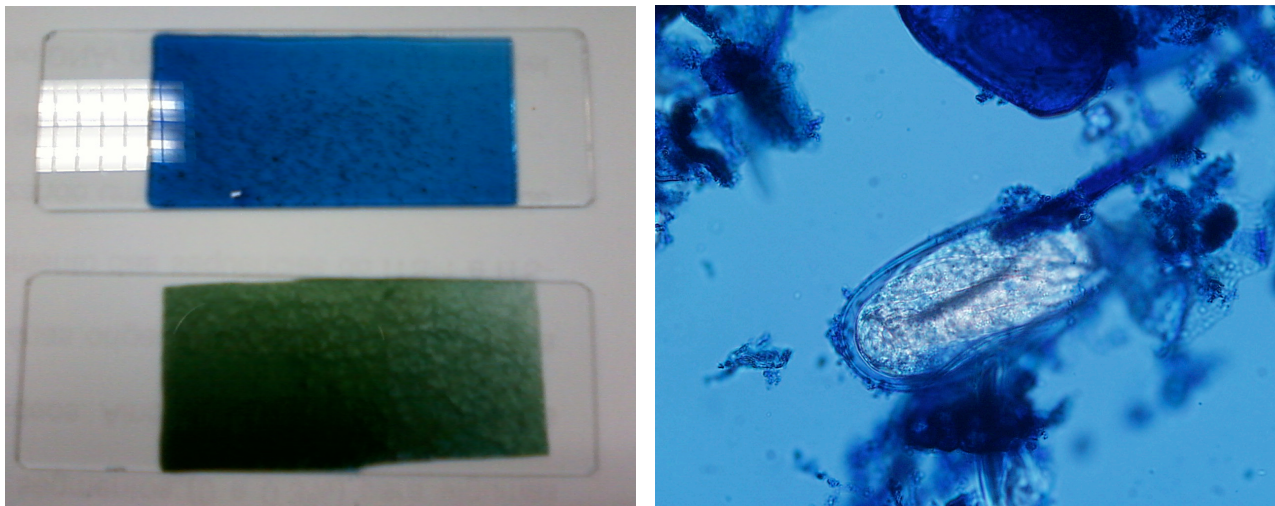
Figura 14 - Método de Willis (flutuação) (original)

identificavam-se os organismos presentes (figura 14).

Para a elaboração deste teste recorremos a uma medida padrão de cerca de 2 g de fezes para 28 ml de solução saturada.

Para o processo de Sedimentação (figuras 15 e 16) (Anexo 3) procuraram-se ovos cuja densidade fosse superior à da solução na qual estavam imersos e, portanto, que sedimentavam com o restante sedimento. Nesta fase procuravam-se ovos de Tremátodes, essencialmente de *Fasciola hepatica*.

A identificação para ambos os processos foi feita recorrendo às chaves e figuras apresentadas por Thienpont *et al.* (1986).



Figuras 15 e 16 - Método de Willis (sedimentação) ; à direita pormenor da sedimentação (originais)

5.2.1.2. Métodos quantitativos

Com o objectivo de quantificar o número de ovos presentes na amostra por unidade de peso aferindo, desta forma, o grau de infecção ou nível de eliminação de ovos por grama de fezes (OPG) a que o equídeo estaria sujeito, recorremos ao Método de McMaster, (Anexo 4). Para a extrapolação dos resultados em câmara de McMaster recorremos a um factor de conversão calculado da seguinte forma:

$$\frac{\text{Volume (1g de fezes)}}{\text{Volume (câmara de contagem)}} = \frac{15 \text{ ml}}{0.30 \text{ ml}}$$

Factor de conversão = 50

5.2.2. Coproculturas

O princípio subjacente a este método de análise é que os excrementos representam simultaneamente a fonte de elementos parasitários e o melhor meio de cultura para o seu desenvolvimento. Embora o diagnóstico através de coprocultura deva começar macroscopicamente, atendendo ao aspecto das fezes e presença de parasitas, é microscopicamente que o método ganha maior especificidade, existindo para tal diversas técnicas (Madeira de Carvalho 2007).

Madeira de Carvalho (2001) refere que a coprocultura é uma técnica de especial importância na pesquisa de formas larvares L3 de nemátodes da família *Strongylidae*. Permite a pesquisa dos estrongilídeos existentes na comunidade de parasitas e torna perceptível quais as espécies resistentes aos anti-helmínticos. Este facto justifica o aumento da prevalência de L3 de *Cyathostomum* s.l. antes e após os processos de desparasitação (Madeira de Carvalho *et al.*, 2006)

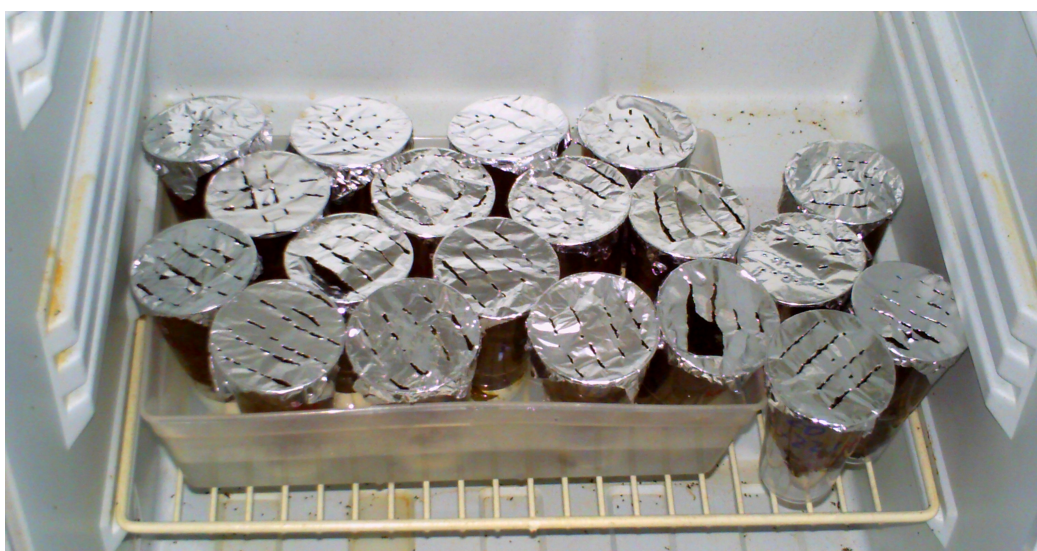


Figura 17 - Coprocultura, Método de Roberts O'Sullivan (original)

Assim, tendo como objectivo a obtenção de larvas (L3), recorreremos ao método de Roberts e O'Sullivan, Anexo 5.

As larvas daqui resultantes ao fim de 14-17 dias em estufa a 24-26°C possuem as características necessárias para a sua identificação.

Na estufa propiciou-se o desenvolvimento dos ovos até ao estágio infectante através de um cuidadoso controlo de factores como a temperatura, humidade relativa e oxigenação (Euzéby, 1982; Graber 1983).

Seguidamente a identificação foi feita com recurso a chaves dicotómicas, no presente caso baseados nos trabalhos de Madeira de Carvalho *et al.*, (2004, 2007, 2008), que se apresenta no (Anexo 6). Esta identificação tem o objectivo de determinar os parâmetros que seguidamente se apresentam:

- Prevalência de animais infectados

$$\frac{\text{Número de animais infectados}}{\text{Número total de animais}} \times 100$$

- Prevalência dos diferentes organismos nos animais infectados

Ex:

$$\frac{\text{Nº de animais com } \textit{Strongylus vulgaris}}{\text{Nº de animais infectados}} \times 100$$

Abundância relativa é expressa em % e refere-se ao número de L3 de um gênero ou espécie por cada cem larvas identificadas.

A identificação nem sempre é um processo fácil, quer por deterioração da larva (caso passe muito tempo desde a sua recolha), quer pelo seu posicionamento em relação à lente. No entanto, nas ocasiões em que se geraram dúvidas sobre a identificação de indivíduos específicos, a amostra foi fotografada com recurso a uma máquina fotográfica digital Olympus® DP-10 acoplada ao microscópio Olympus®, modelo BX-50-3 (figura 18).

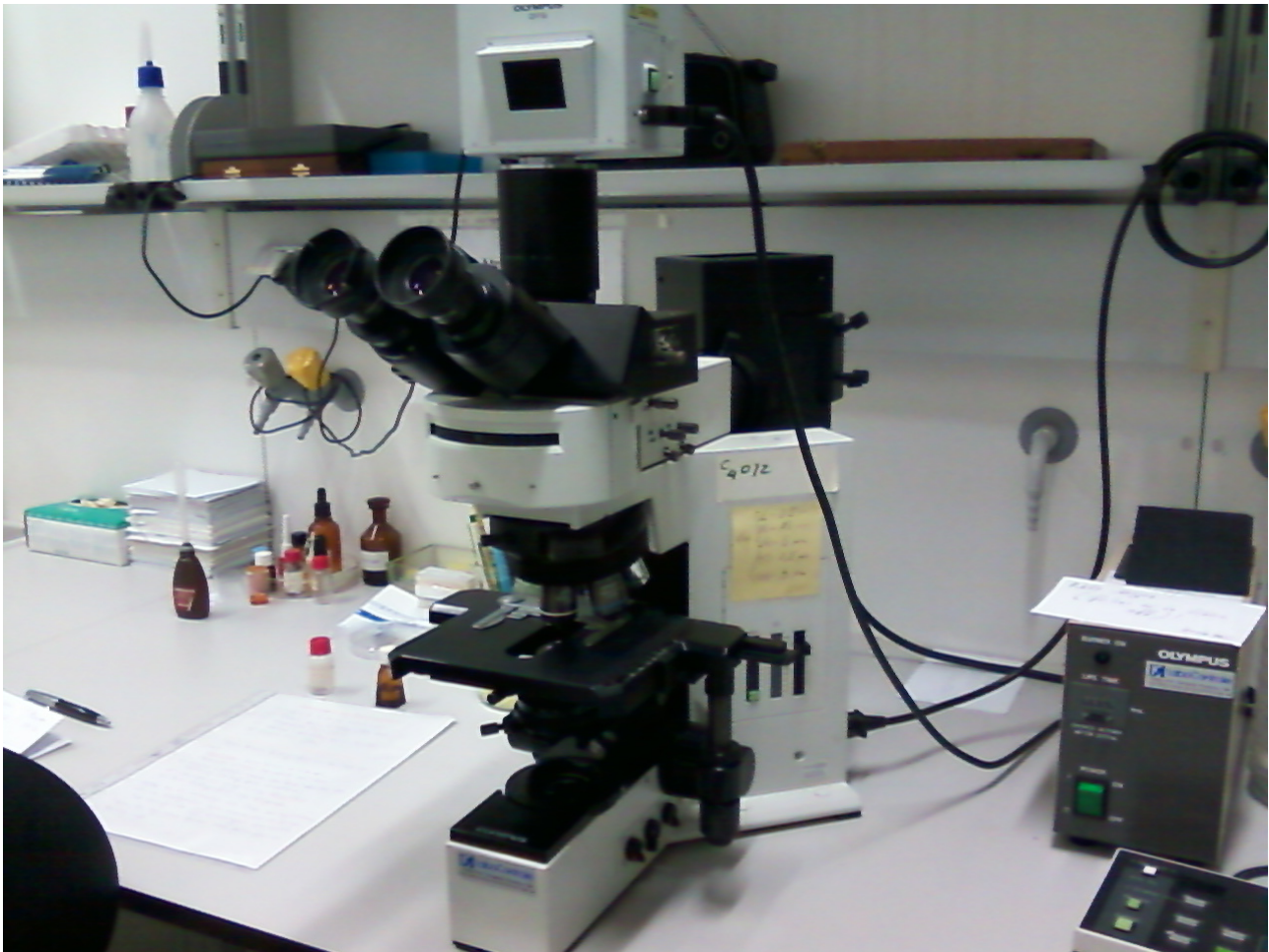


Figura 18 - Microscópio Olympus BX-50-3 (original)

6. Tratamento Estatístico

Após a recolha completa dos dados procedemos ao seu tratamento estatístico através do programa R (<http://cran.r-project.org/>).

Os gráficos apresentados foram elaborados com recurso às funções plot e boxplot do mesmo programa e também do programa Microsoft Excel.

A análise estatística teve como objectivo quantificar a importância de cada preditor para que pudessemos olhar objectivamente para cada um e entender que variação representam na curva parasitológica dos equídeos presentes no estudo.

No capítulo **7. Resultados**, apresentaremos os resultados em texto sob a forma de resumo, podendo os outputs resultantes do programa serem vistos em Anexo devidamente identificado.

Este tratamento foi efectuado com recurso a uma Regressão Linear Múltipla para as recolhas realizadas nas populações Alter, Sorraia e Cavalos de Przewalski.

Posteriormente foi elaborada outra regressão para o conjunto das populações Alter e Sorraia, tentando nesta análise excluir o efeito do factor Raça.

Os factores considerados nas análises foram os seguintes:

- **Mês** - Factor utilizado para determinar se existem diferenças estatisticamente significativas nos níveis de parasitismo ao longo do ano (em meses)
- **Raça/Espécie** - Factor utilizado para determinar a relevância do factor raça ou espécie
- **Consanguinidade** - Factor utilizado para determinar a relevância de diferentes níveis de consanguinidade no índice de parasitismo encontrado nos animais. Note-se que este estudo engloba uma população com um nível de consanguinidade excessivamente elevado - Sorraia - contrastando com uma outra - Alter - com valores de consanguinidade baixos, na sua maioria nulos. Estes valores foram obtidos pela Professora Doutora Maria do Mar Oom.
- **Idade** - Factor utilizado para determinar se a idade do hospedeiro tem influência na sua susceptibilidade ao parasitismo.
- **Disponibilidade de Erva** - Factor utilizado para medir a importância que a erva (presença e quantidade) tem na perpetuação do ciclo parasitológico através da reinfecção de hospedeiros.
- **Coprocultura** - Este factor é utilizado apenas como medidor de fiabilidade das contagens de McMaster, método que deixa algumas dúvidas quanto à sua capacidade de amostragem e extrapolação. Na coprocultura utiliza-se quase toda a amostra pelo que não há necessidade de extrapolação, tentando-se perceber se há motivo para preocupação quando obtemos uma contagem na câmara de McMaster e esta contagem não corresponder de forma satisfatória ao número de larvas obtidas na coprocultura.

Nesta análise começámos por efectuar o teste de Shapiro-Wilk para determinar a normalidade dos nossos dados. Uma vez que esta condição não foi verificada na respectiva distribuição, tivemos que optar por métodos de análise não paramétrica em vez de uma análise de variância

paramétrica, ANOVA.

Para cada factor foram efectuados testes de Kruskal-Wallis, um método de análise de variância não paramétrica.

Para cada factor não numérico (Mês e Raça) só se realizou o teste de Kruskal-Wallis, uma vez que não é possível considerá-los nas análises da regressão, onde só constam os factores numéricos ou preditores (Consanguinidade, Disponibilidade de Erva, Idade e Coprocultura). Na interpretação dos resultados iremos considerar, no entanto, e numa perspectiva descritiva, algumas das características dos núcleos em estudo.

Foi utilizado um índice de confiança de 95% (correspondendo a um nível de significância de 0,05 ($\alpha=0,05$)). Na prática significa que o resultado de um teste de Kruskal-Wallis só é estatisticamente relevante se o nível de significância obtido for superior ao valor de p ($p>0,05$).

O valor de p (p -value) é um parâmetro que corresponde ao menor nível de significância que pode ser assumido para rejeitar a hipótese nula, ou seja, assumimos que há significância estatística quando o valor de p é menor do que o nível de significância adoptado.

7. Resultados

Iniciaremos a apresentação dos resultados para todas as análises efectuadas com a apresentação dos gráficos de OPG resultante da contagem de McMaster ao longo do ano, pois analisaremos, de seguida, as análises do efeito dos diferentes factores na distribuição encontrada para essas contagens.

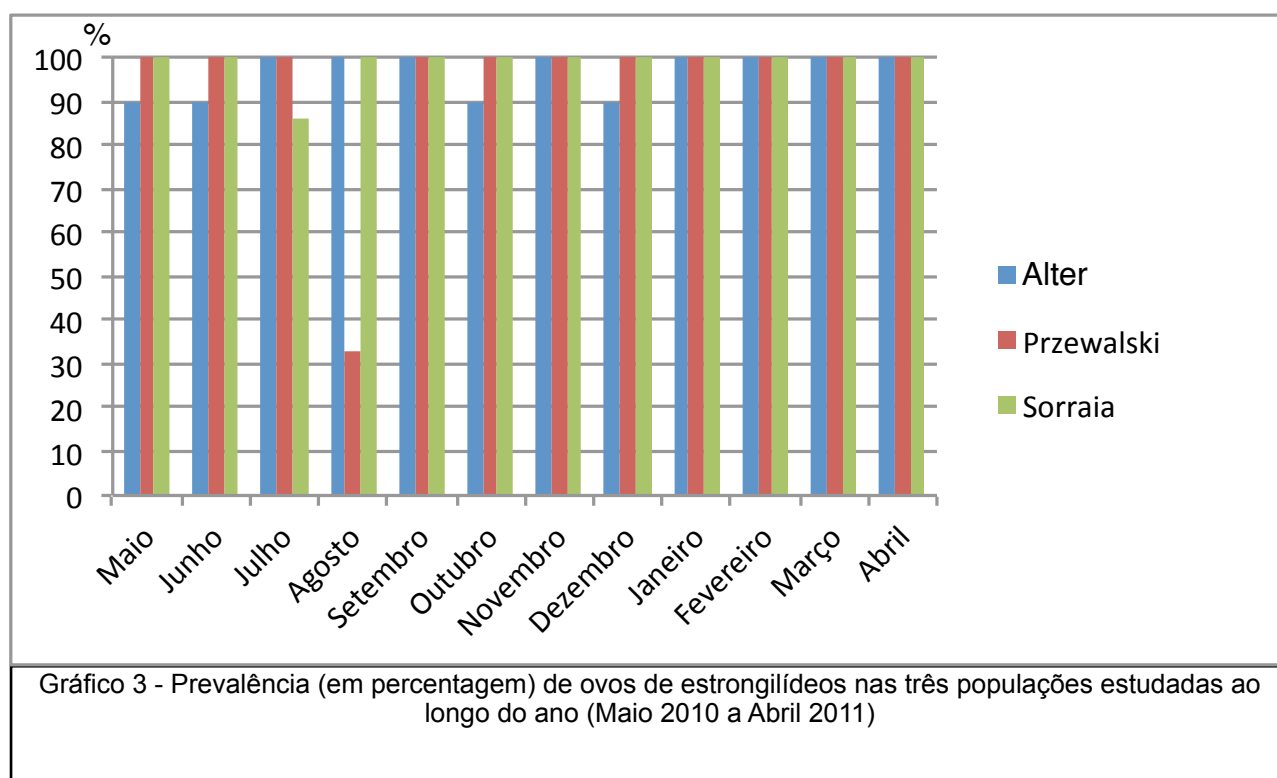
Por fim, serão apresentadas as contagens de larvas L3 nas coproculturas para que se perceba que tipo de parasitas está presente e em que percentagem relativa.

7.1. Contagens pelo Método de McMaster

Os gráficos 3, 4 e 5 apresentados referem-se às três raças/espécie consideradas no presente estudo, pois achámos também importante observar as reacções ao parasitismo num contexto mais englobante.

É também de uma grande importância observar este conjunto de gráficos pois ilustram a variação de uma curva parasitológica ao longo do ano e permitem-nos quantificá-la, motivo pelo qual esta será a variável tomada como resposta para medir a relevância dos factores que nos propusemos a estudar.

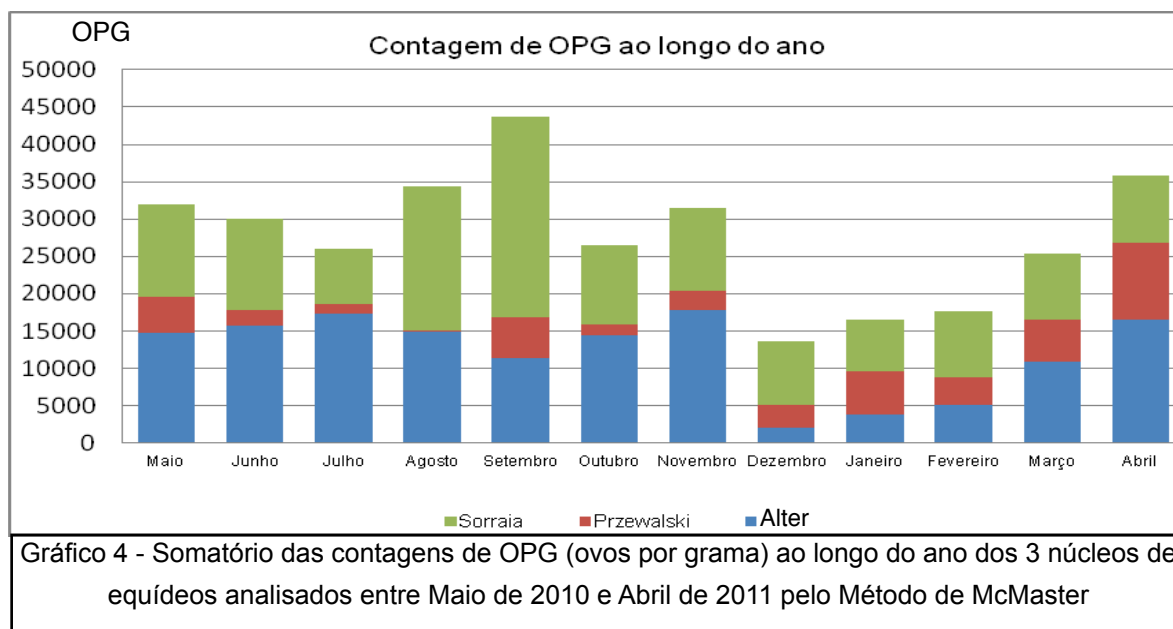
Apresentamos em primeiro lugar o gráfico 3, referente à prevalência de ovos de strongilídeo nas três populações estudadas. Conseguimos observar que as prevalências se mantêm relativamente constantes ao longo do ano. Apenas em 6 registos não se atingiu os 100% de prevalência, demonstrando a necessidade de desparasitar os animais.



No entanto, os Cavalos de Przewalski apresentam resultados bastante distintos relativamente às duas raças de *Equus caballus*, facto que poderá mascarar diferenças relevantes entre os níveis

de parasitismo nestes dois núcleos de cavalos domésticos. Por essa razão, na Regressão Linear Múltipla apenas serão contempladas as raças Lusitano de Alter e Sorraia.

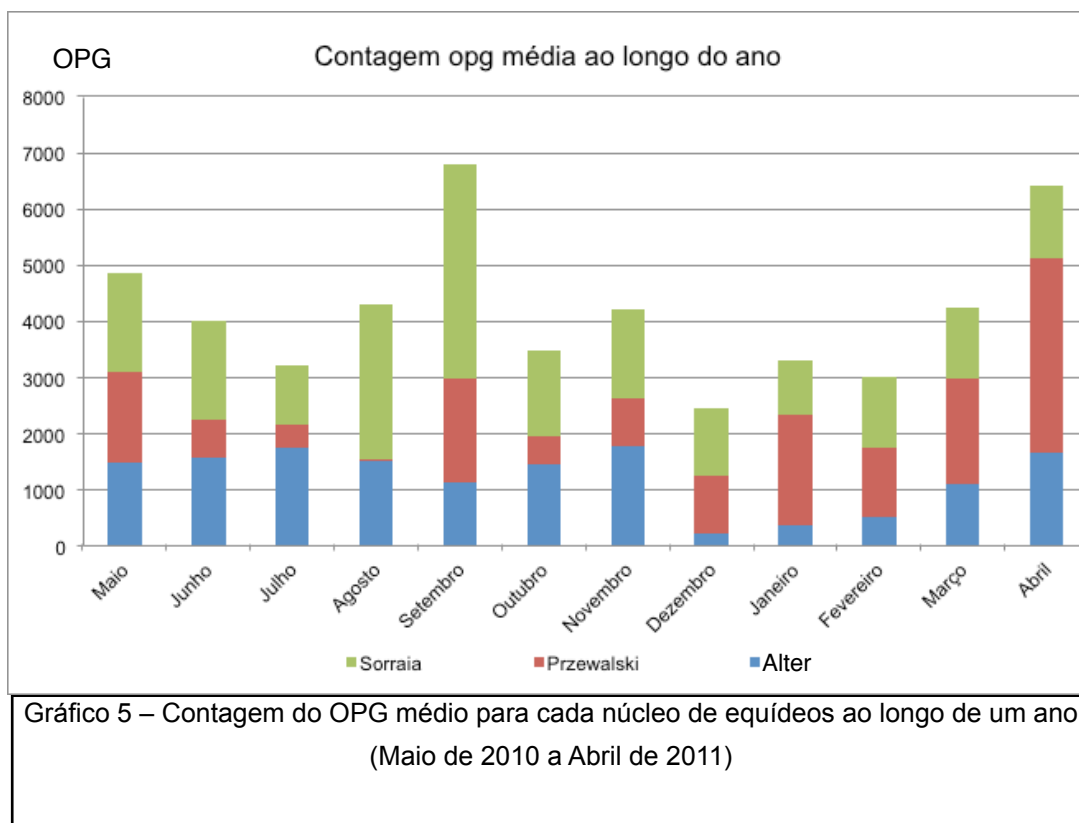
No gráfico 4 podemos observar a variação anual nas contagens totais, portanto o somatório das contagens efectuadas nas três raças/espécies. Temos um resultado para o mês de Agosto inflacionado pela amostra da S-919 Pimba, que registou 14050 OPG. No entanto, a distribuição apresenta dois picos evidentes no ano, em Setembro e em Abril-Maio.



Para que possamos excluir a dimensão de cada raça/espécie nas recolhas efectuadas, apresentamos o gráfico 5, composto pelas médias das contagens de OPG apuradas para os três núcleos. À semelhança do que se observa no gráfico 4, o mês de Agosto tem a particularidade de registar uma contagem quase nula para os Cavalos de Przewalski, efectivamente duas das três amostras recolhidas foram mesmo negativas, não apresentando qualquer ovo de strongilídeo.

Fica patente no gráfico 5 a grande variabilidade nas contagens apuradas para os Cavalos de Przewalski que, em períodos de tradicionais picos registam contagens mais elevadas que as restantes populações. No entanto em períodos caracterizados por níveis de parasitismo inferiores registam contagens mais baixas do que as restantes populações.

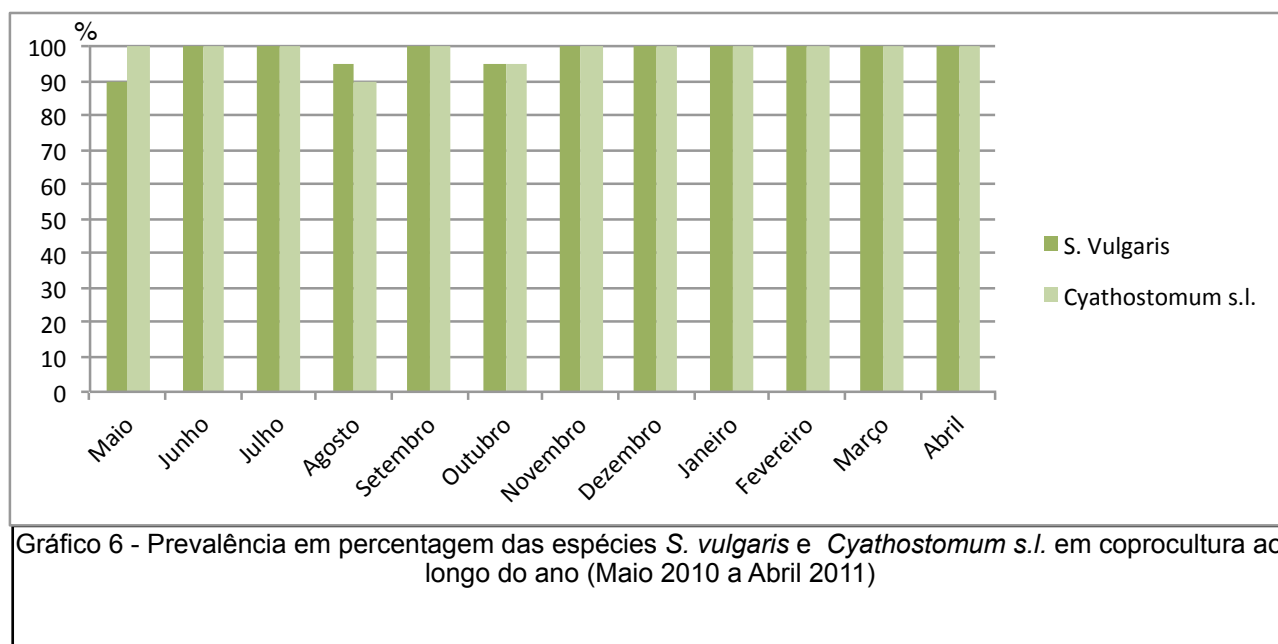
Este facto faz dos Cavalos de Przewalski a população que regista tanto os mínimos como os máximos valores de OPG ao longo do ano, demonstrando grande amplitude na sua reacção aos factores que modelam o parasitismo gastrointestinal em equídeos.



7.2. Resultados das Coproculturas

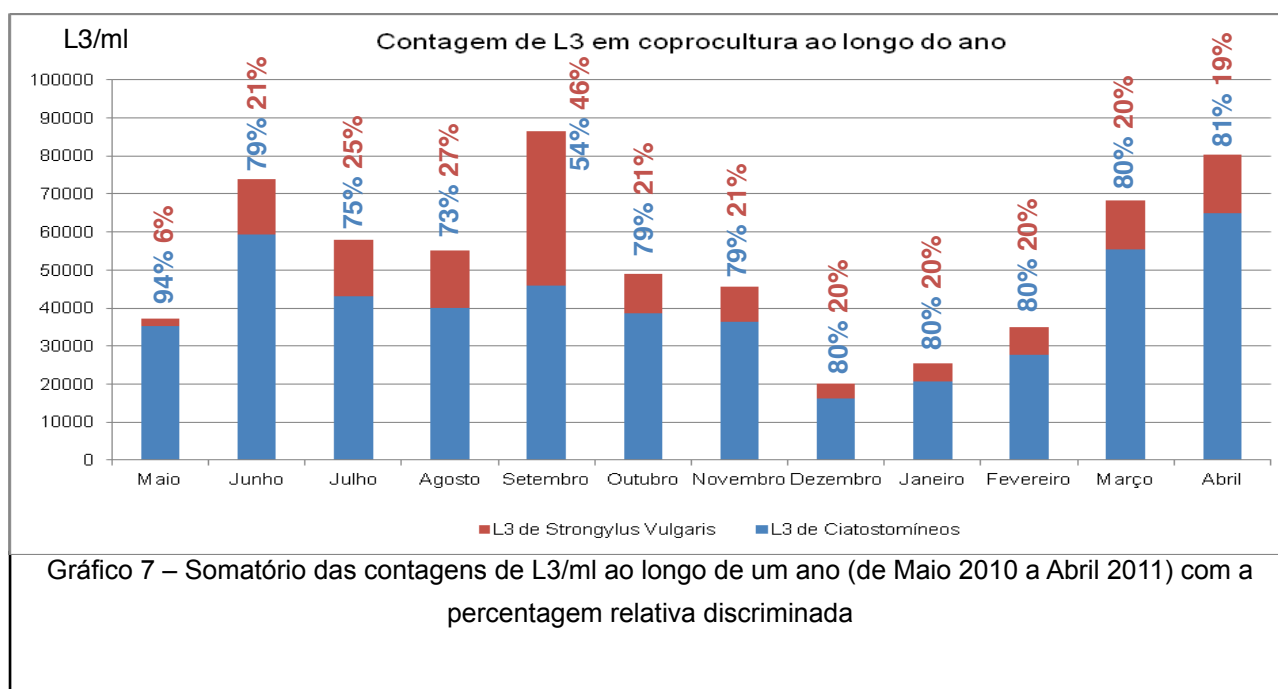
Nos gráficos 6, 7 e 8 apresentamos a evolução dos resultados das coproculturas no conjunto das amostras efectuadas, bem como a variação relativa de cada um dos intervenientes, *Strongylus vulgaris* e *Cyathostomum sensu latum*.

Começaremos por apresentar o gráfico 6 referente às prevalências de cada espécie ao longo do ano, à semelhança do que fizemos no subcapítulo 7.1..

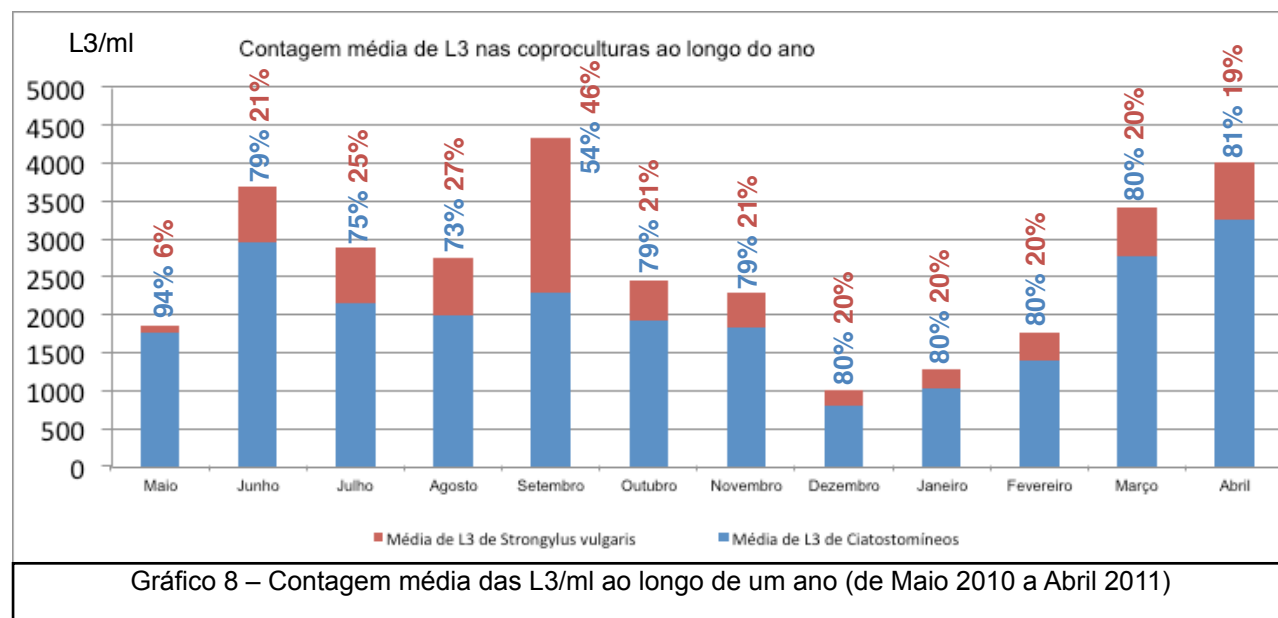


Seguidamente passamos aos gráficos 7 e 8, relativos às contagens de L3/ml obtidas por observação ao microscópio. O gráfico 7 ilustra o somatório das contagens de L3/ml ao longo do

ano (de Maio 2010 a Abril 2011). No topo de cada barra estão as percentagens relativas de cada espécie observada (a vermelho *Strongylus vulgaris* e a azul *Cyathostomum sensu latum*).



De acordo com os cálculos efectuados a percentagem de *Cyathostomum sensu latum* situa-se ao longo do ano nos 80% e dos *Strongylus vulgaris* nos restantes 20%, no entanto é patente nos gráficos 7 e 8 uma variação grande no mês de Setembro, dirigir-nos-emos a este assunto no capítulo 8. **Discussão.**



Não apresentaremos uma discriminação dos resultados por raça assentando no princípio de que a variação se mantém constante para todas as raças. Efectuámos os devidos cálculos para o garantir, e a variação numérica que se obtém é a mesma que nas contagens de McMaster. Não esqueçamos que o resultado das coproculturas está intimamente ligado ao resultado das contagens de McMaster e que portanto seguem o mesmo padrão de distribuição anual.

7.3. Análise individual de cada núcleo

7.3.1. Núcleo Alter

Os resultados de cada núcleo serão apresentados sob a forma de gráfico de linhas pois torna-se mais fácil observar picos sazonais e porque os valores num gráfico de barras estão já registados nos gráficos 4 e 5. Para o núcleo Alter (gráfico 9) podemos observar 2 picos prolongados pela quase totalidade do ano, sendo a altura de menor parasitismo no Inverno.

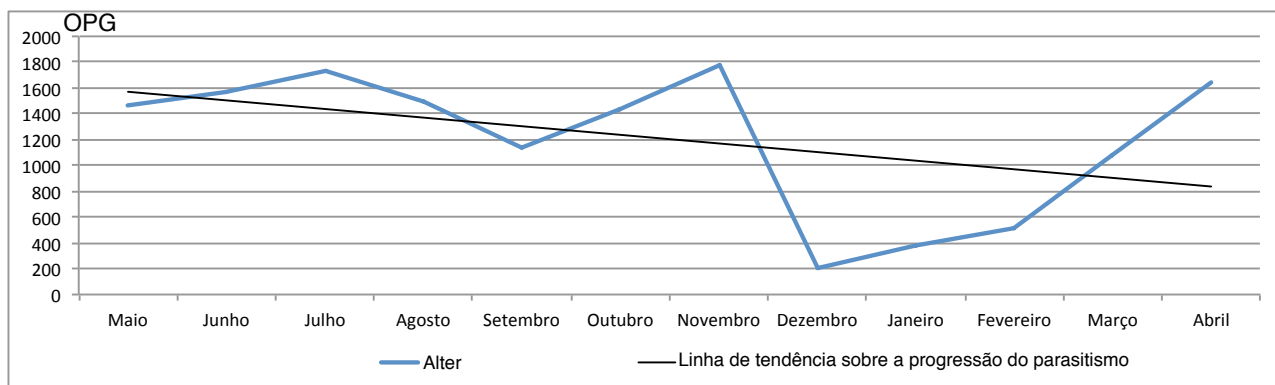


Gráfico 9 – Contagem do OPG médio ao longo do ano das Alter com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo

7.3.1.1. Regressão linear

Na regressão linear múltipla (Anexo 9) podemos observar a influência que cada um dos preditores tem na contagem de OPG ($F=33,56$; $p=2,2e-16$): na coluna de “Estimate” podemos observar que alteração produziria na variável-resposta (var.dependente), a variação unitária no preditor. O valor “Multiple R-squared” (coeficiente de determinação) é um indicador da fiabilidade da nossa regressão: um valor de 0,5386 significa que 53,86% da variação da variável-resposta é explicada pela equação de regressão do nosso modelo.

O valor “Adjusted R-squared” funciona no mesmo princípio que o anterior mas é mais fiável por estar corrigido para o número de preditores tomados em conta na regressão linear desenvolvida. O valor que nos é apresentado continua a ser alto, mantendo a confiança que as interpretações que se fazem a partir desta análise são bem extrapoláveis para a realidade.

Os “*” indicam-nos a importância de cada variável para a produção de uma boa regressão e estão directamente relacionados com o valor de p (p value) calculado.

Factores com correlação positiva

Coproculturas – variável “coproAnoLUS” em L3/ml – como já referido anteriormente este factor está aqui incluído para podermos aferir sobre o rigor da técnica de McMaster e da sua capacidade de amostragem e extrapolação. De todos os factores importantes de analisar este não é um deles. Estabelecemos anteriormente que era um factor de aferição de rigor das contagens pelo Método de McMaster. Por cada 1,00 larvas do estágio 3 (L3) que se faz variar no preditor, obtemos uma

variação de 1,12472 OPG na contagem pelo método de McMaster.

Consanguinidade – variável “InbreedAnoLUS” em % - esta variável tem particular importância, pois é a primeira vez que se estuda a sua influência no parasitismo gastrointestinal. Em termos de consanguinidade temos um agravamento do parasitismo. A variação em 1,00% do nível de consanguinidade acarreta um aumento da contagem pelo método de McMaster em 25,81682 OPG.

Factores com correlação negativa

Erva – variável “ErvaAnoLUS” em kg MS/ha – a erva é um factor importante pois parte fundamental do ciclo biológico dos strongilídeos dá-se na erva. O factor Erva tem um t value muito próximo de 0, o que significa que é relevante para a modelação. No entanto, o seu impacto por variação de 1,00 kg MS/ha é baixo, pois encontra-se diluído por um grande conjunto de valores.

Idade – variável “IdadeAnoLUS” em anos – a idade é um factor importante em particular porque varia ao longo do tempo e portanto a sua influência não é constante. Não se pode aferir sobre o parasitismo em poldros e tomar esta aferição como verdadeira para todos os equinos de todas as faixas etárias. A variação em 1,00 ano representa um decréscimo de 18,87251 ovos na contagem pelo Método de McMaster.

7.3.1.2. Método de Kruskal-Wallis

Seguidamente passamos à análise pelo Método de Kruskal-Wallis (Anexo 9) de cada factor incluído na regressão. Nesta análise vamos conseguir perceber que tipo de relevância é que tem cada factor para esta raça especificamente.

Por uma questão de organização, iremos adoptar a mesma ordem imposta aquando da análise dos dados da regressão linear. Desta forma começaremos pelos preditores que apresentaram correlação positiva.

Factores com correlação positiva

Coprocultura

Variáveis “McMasterAnoLUS” e “coproAnoLUS”, as variáveis com a adição das iniciais das raças são vectores contendo apenas os valores correspondentes à raça/espécie em questão. Na realidade é a extracção ao vector original dos valores nas posições correspondentes a cada raça/espécie. No caso das Alter são os valores nas posições 1-10 de cada um dos vectores já compostos para a análise integral.

De acordo com o nosso índice de confiança um factor só pode ser estatisticamente relevante se o valor de p for inferior a 0,05, facto que, como podemos observar, não ocorre. Da análise resultou ($0,05 < p < 0,39$), logo que o factor coprocultura não é estatisticamente relevante.

Consanguinidade

Variáveis “McMasterAnoLUS” e “InbreedAnoLUS”, temos um valor de p superior a 0,05 ($p=0,051$), mas tão pouco superior que não nos é possível concluir que a consanguinidade não seja

relevante. Aliás, na regressão podemos ver que a consanguinidade é o factor que, unitariamente, mais influencia a contagem de OPG pelo Método de McMaster.

Factores com correlação negativa

Erva

Variáveis “McMasterAnoLUS” e “ErvaAnoLUS”, temos um valor tão baixo e tão distante do limite de 0,05 de p-value ($p=8,22e-6$) que podemos concluir com alguma certeza, dentro dos limites da inferência estatística e dos riscos do ajustamento, que o factor Erva para o núcleo Alter é um factor estatisticamente importante.

Idade

Variáveis “McMasterAnoLUS” e “IdadeAnoLUS”, de acordo com os dados, não é um factor relevante ($0,05 < p < 0,40$) para o núcleo Alter embora tenha alguma influência em termos numéricos na contagem de OPG, isto pode-se dever à razão contrária da Erva, a idade estende-se por um conjunto de valores muito pequeno.

Factores não numéricos

Uma vez que estes dados são referentes apenas ao núcleo Alter o factor raça não é avaliado aqui, restando apenas o factor tempo.

Mês

Variáveis “McMasterAnoLUS” e “MesLUS”, de acordo com os dados obtidos podemos entender o factor Mês, portanto a progressão do parasitismo ao longo do ano, como estatisticamente relevante ($p=0,00054 < 0,05$).

7.3.2. Núcleo de Cavalos de Przewalski

Passaremos a analisar agora os mesmos factores mas tendo em conta a sua influência na espécie dos Cavalos de Przewalski.

No gráfico 10 estão patentes três picos distintos, Setembro, Janeiro e Abril, o que demonstra a grande variabilidade que caracterizou este núcleo durante o desenvolvimento deste trabalho.

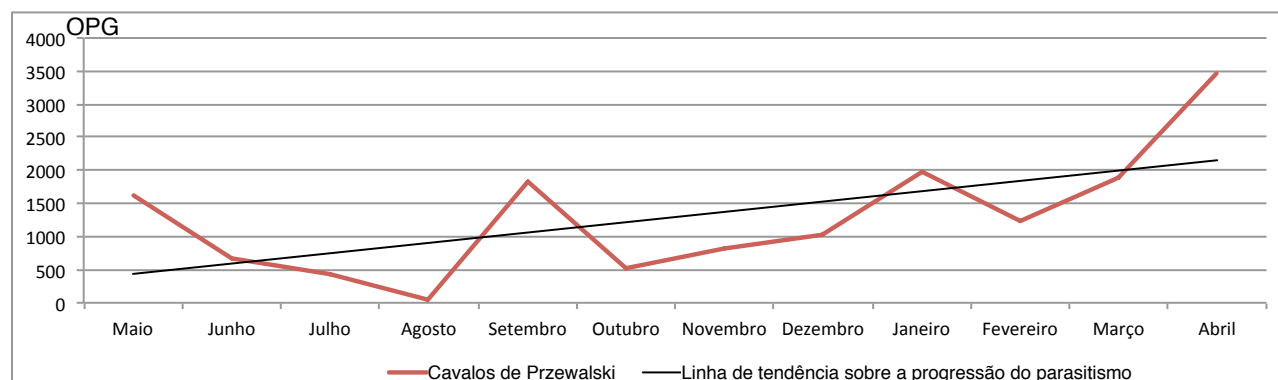


Gráfico 10 – Contagem do OPG médio ao longo do ano do núcleo de Cavalos de Przewalski com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo

Começaremos como anteriormente pela regressão linear e seguindo a ordem já estabelecida.

7.3.2.1. Regressão linear

Podemos começar esta análise por reparar no Anexo 10, que este ajustamento é consideravelmente melhor do que aquele aplicado ao núcleo de Lusitanas de Alter Real. O valor “Multiple R-squared” (coeficiente de determinação) é de 0,748, ou seja, 74,8 % dos dados são bem explicados pela equação desta regressão ($F=31,56$; $p=1,608e-9$). Esta variação pode ter como motivo o número de animais presentes no núcleo; enquanto que há 51 Lusitanas em estudo, há apenas 3 Cavalos de Przewalski.

Factores com correlação positiva

Coproculturas – variável “coproAnoPRZ” em L3/ml – a variação unitária no preditor produz uma alteração de 0,88036 OPG na variável resposta. Como o t value é o mais elevado entre todos os preditores utilizados para modelar esta curva, esta variável é a que menos contribui para a modelação. Seguindo o princípio da parcimónia, excluirmos esta variável do modelo. Na prática estamos a afirmar o que já foi anteriormente dito, ou seja, que o Método de McMaster é satisfatoriamente rigoroso.

Consanguinidade – não foi feita a análise para este parâmetro nesta espécie por falta de dados.

Factores com correlação negativa

Erva – variável “ErvaAnoPRZ” em kg MS/ha – a variação em 1,00 kg MS/ha produz uma resposta de 0,12635, mantendo a tendência já vista anteriormente. Embora produza uma variação pequena, é um factor muito relevante.

Idade – variável “IdadeAnoPRZ” em anos – a variação unitária deste preditor tem menor influência nos cavalos de Przewalski do que nos Lusitanos, provocando apenas um decréscimo de 8,91332 OPG.

7.3.2.2. Método de Kruskal-Wallis

Os testes Kruskal-Wallis estão representados no Anexo 10.

Factores com correlação positiva

Coprocultura

Variáveis “McMasterAnoPRZ” e “coproAnoPRZ”, como já referido esperamos que este valor se distancie muito dos 0,05 ($p=0,37>>0,05$), demonstrando que este valor não é relevante para a modelação e que as contagens pelo método de McMaster são um bom método de aferição.

Como se esperava, $0,3746>>0,05$, este factor não é estatisticamente relevante.

Consanguinidade

Este factor não foi testado para os Cavalos de Przewalski por falta de dados.

Factores com correlação negativa

Erva

Variáveis “McMasterAnoPRZ” e “ErvaAnoPRZ”, como podemos observar, a erva é um factor importante ($p<0,05$).

Idade

Variáveis “McMasterAnoPRZ” e “IdadeAnoPRZ”, embora a conclusão seja bastante limitada pelo número de indivíduos a Idade não parece ser um factor relevante na evolução do parasitismo gastrointestinal ao longo do ano para os Cavalos de Przewalski ($p=0,577>0,05$).

Factor não numérico

Mês

Variáveis “McMasterAnoPRZ” e “MesPRZ”, como se pode observar o factor tempo é também relevante para os Cavalos de Przewalski ($p=0,0189<0,05$).

7.3.3. Núcleo Sorraia

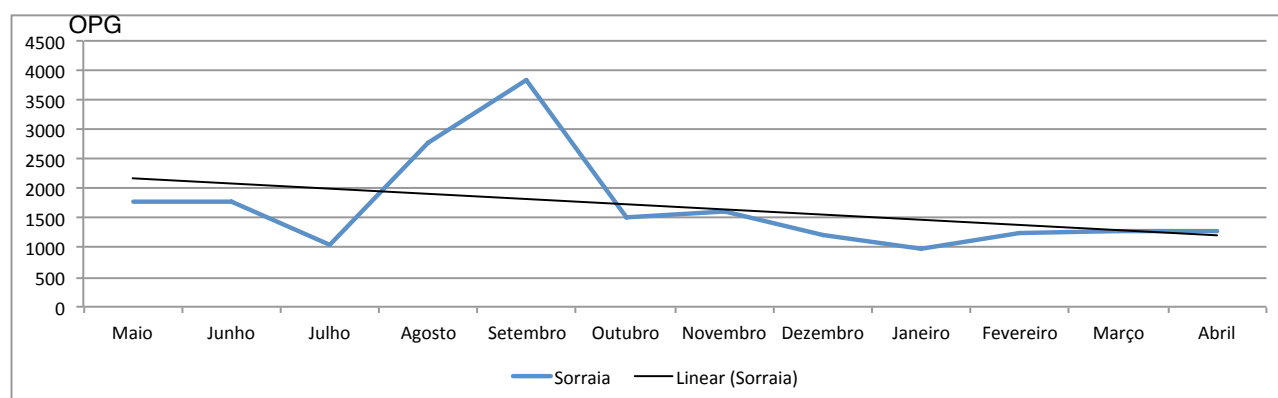


Gráfico 11 – Contagem do OPG médio ao longo do ano para os Cavalos do Sorraia com linha de tendência sobre a progressão do parasitismo

Podemos observar neste gráfico 11 um pico muito marcado, coincidente com o primeiro pico das restantes raças, no entanto o segundo pico, pela altura da Primavera já não é tão patente, sugerindo que as éguas de raça Sorraia poderão não ser muito susceptíveis às condições de temperatura, disponibilidade de erva e de água que se verificam nos meses de Abril-Maio.

7.3.3.1. Regressão linear

Como podemos observar (Anexo 11), este ajustamento ($F=56,11$; $p=2,2e-16$) tem um valor “Multiple R-Squared” muito próximo do anterior, revelando que é um bom ajustamento e, provavelmente, pelo mesmo motivo que nos Cavalos de Przewalski, poucos elementos no núcleo. Os factores com correlação negativa/positiva são os mesmos que os anteriores, embora com valores diferentes. Estas diferenças serão analisadas no capítulo 8. **Discussão.**

Factores com correlação positiva

Coproculturas – variável “coproAnoSOR” em L3/ml – a variação unitária no preditor produz uma alteração de 1,12362 OPG na variável resposta. Como o t value é o mais elevado entre todos os preditores utilizados para modelar esta curva, esta variável é a que menos contribui para a modelação. Seguindo o princípio da parcimónia, excluirmos esta variável do modelo. Na prática

estamos a afirmar o que já foi anteriormente dito, ou seja, que o Método de McMaster é satisfatoriamente rigoroso.

Consanguinidade – variável “InbreedAnoSOR” em % - esta variável tem particular importância, pois é a primeira vez que se estuda a sua influência no parasitismo gastrointestinal. Em termos de consanguinidade observou-se um agravamento do parasitismo. A variação em 1,00% do nível de consanguinidade acarreta um aumento da contagem pelo método de McMaster em 11,42295 OPG.

Factores com correlação negativa

Erva – variável “ErvaAnoSOR” em kg MS/ha – a variação em 1,00 kg MS/ha produz uma resposta de -0,19597, mantendo a tendência já vista anteriormente. Embora produza uma variação pequena, é um factor muito relevante.

Idade – variável “IdadeAnoSOR” em anos – a variação unitária deste preditor provoca um decréscimo de 22,19636 OPG pelo Método de McMaster.

7.3.3.2. Método de Kruskal-Wallis

Os testes Kruskal-Wallis estão representados no Anexo 11.

Factores com correlação positiva

Coprocultura

Variáveis “McMasterAnoSOR” e “coproAnoSOR”, mantemos a análise a este factor apenas para continuar a sequência iniciada, pois este resultado é já bastante previsível pelos motivos também já adiantados.

Porque ($p=0,3598 \gg 0,05$) temos o resultado esperado, ou seja que a coprocultura não é um factor estatisticamente relevante. Como já foi mencionado, não o é, pois as restantes variáveis conseguem produzir um bom modelo, tornando a variável “coproAnoSOR” desnecessária.

Consanguinidade

Variáveis “McMasterAnoSOR” e “InbreedAnoSOR”, este é o factor que nos gera mais curiosidade pois na análise de cada núcleo podemos comparar valores e importância da consanguinidade entre raças.

Este resultado ($p=0,32 \gg 0,05$) denota a pequena relevância que a consanguinidade terá nos resultados obtidos nas contagens. Este resultado será discutido mais à frente.

Factores com correlação negativa

Erva

Variáveis “McMasterAnoSOR” e “ErvaAnoSOR”, uma vez que esta já é a terceira regressão não se esperam grandes variações em relação aos resultados obtidos anteriormente.

No entanto as Sorraias parecem reagir de forma diferente dos outros núcleos ao factor Erva, que é claramente pouco relevante para este núcleo ($p=0,75 \gg 0,05$).

Idade

Variáveis “McMasterAnoSOR” e “IdadeAnoSOR”, de novo de acordo com as regressões

anteriores esperamos uma rejeição da relevância estatística deste factor. Porque o p-value ($p=0,55 >> 0,05$) temos a resposta que esperávamos.

Factor não numérico

Mês

Variáveis “McMasterAnoSOR” e “MesSOR”, de acordo com os resultados anteriores esperamos a aceitação deste factor como estatisticamente relevante.

No entanto, não só não se verifica esta aceitação, como a rejeição é bastante enfática ($p=0,68 >>> 0,05$), tal como alguns outros pontos aproveitaremos a discussão para apurar as causas destas variações.

7.3.4. Análise conjunta dos núcleos Alter e Sorraia

A análise que seguidamente se apresenta é referente às amostras recolhidas em cada mês nos núcleos Alter e Sorraia, bem como os efeitos que se fazem sentir por cada um desses factores na amostra total ($F=93,07$; $p=2,2e-16$).

Segue-se a regressão linear múltipla executada com os factores já mencionados, apenas para as raças Alter (L) e Sorraia (S).

7.3.4.1. Regressão linear

Para complementar a informação obtida nesta regressão (Anexo 12), calculámos o coeficiente de correlação de Spearman entre os diferentes factores, pois é aquele que se aplica a dados que não verifiquem a condição de normalidade.

O que se obtém é um valor que varia entre 0 e 1 e que mede o desenvolvimento da nossa variável resposta de acordo com as variações dos nossos preditores.

Um valor próximo de zero significa uma correlação baixa, ou seja, que a nosso preditor não varia em consonância com a nossa variável resposta. Este facto não implica, no entanto, que o factor não seja estatisticamente relevante. O que temos é um preditor que não varia muito no mesmo sentido que a nossa variável resposta, no entanto, o pouco que varia nesse sentido é importante.

Uma análise mais aprofundada de cada um dos factores demonstra que embora com baixos valores de correlação a consanguinidade é estatisticamente relevante, sendo a única para além da já expectável variável “coproAnoLS”. Para sustentar esta afirmação fazemos um teste à significância dos valores de correlação, que à semelhança dos testes pelo método de Kruskal-Wallis nos indicam a relevância de um factor pelo facto do valor de $p > \alpha$.

Passamos de seguida a analisar cada factor com base nos resultados obtidos nesta regressão. Note-se que esta regressão não explica na perfeição os dados e que a inferência estatística indica tendências e não conclusões definitivas ou absolutas.

Factores com correlação positiva

Coprocultura

De acordo com o resultado obtido, podemos ver que um aumento de 1,00 L3/ml significa uma

variação positiva de 1,11686 na contagem de OPG, valores muito próximos. Mais ainda, porque temos um $|t\text{-value}| \gg 0$ significa que se seguíssemos o princípio da parcimónia esta seria a primeira variável a excluir, ou seja, que ela não é relevante para a modelação, assegurando-nos assim que o método de McMaster nas suas vertentes de amostragem e extrapolação é satisfatório e um bom protocolo de estudo quantitativo do parasitismo gastrointestinal.

Esta análise é basilar para toda a inferência que faremos seguidamente pois toda ela assenta no rigor dos dados recolhidos pela contagem de McMaster.

Consanguinidade

Podemos observar que por cada aumento em 1,00% do nível de consanguinidade observa-se um aumento de 1.34204 na contagem de OPG, significando, em análise para o conjunto dos núcleos Alter e Sorraia, que a consanguinidade é um factor agravador do parasitismo gastrointestinal.

Factores com correlação negativa

Erva

De acordo com os dados, um aumento em 1,00 kg MS/ha significa um acréscimo negativo de 0,08830 OPG na contagem de McMaster. Este resultado pode parecer irrelevante, mas a unidade de medida utilizada, kg MS/ha, inclui valores muito altos na ordem dos 1000-3500 kg, pelo que o impacto que a erva tem é bastante significativo.

Idade

Em relação aos resultados obtidos podemos observar que um aumento em 1,00 anos de idade produz uma redução de 14.85696 OPG em contagem de McMaster.

7.3.4.2. Método de Kruskal-Wallis

Recorde-se que para que uma variável em estudo seja estatisticamente relevante, o p-value terá que ser inferior a 0,05.

Seguindo a mesma ordem apresentada anteriormente começaremos por apresentar os dados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis (Anexo 12) à coprocultura. No fim colocaremos os dois factores não numéricos e portanto, não constantes da regressão linear múltipla, os factores Raça e Mês. O factor Raça refere-se obviamente à importância que a raça terá na susceptibilidade ao parasitismo enquanto que o factor Mês é o factor referente ao tempo e a sua capacidade de influenciar as contagens.

Factores com correlação positiva

Coprocultura

Variáveis “McMasterAnoLS” e “coproAnoLS”, referentes às contagens pelo método de McMaster medida em OPG e às contagens em coprocultura medida em L3/ml, respectivamente.

Como seria de esperar, já depois de observar os resultados obtidos na regressão linear múltipla podemos afirmar que se trata de uma variável pouco influente e de acordo com este p-value (0,2393 \gg 0,05) conclui-se que esta variável tem pouca influência na contagem de OPG pelo método de McMaster, provando que este para além de expedito e rápido é também fiável e satisfatoriamente rigoroso.

Consanguinidade

Variáveis “McMasterAnoLS” e “InbreedAnoLS”, sendo que esta última representa o nível de consanguinidade em %.

De acordo com os dados, ($p < 0,05$) esta variável é estatisticamente relevante. Sendo a primeira vez que se estuda este factor, procuraremos explorar hipóteses que justifiquem este resultado.

Erva

Variáveis “McMasterAnoLS” e “ErvaAnoLS”, medida em kg MS/ha

Tínhamos já observado que este factor embora diluído por uma grande variedade de valores poderia ser relevante e a prova estatística chega-nos por um p-value muito baixo, significando que com a variação da disponibilidade de erva também se produz uma variação significativa na contagem de OPG pelo método de McMaster.

Raça

Variáveis “McMasterAnoLS” e “RaçaAnoLS”, este último, naturalmente, com três níveis, Alter, Przewalski e Sorraia.

De acordo com este valor ($p=0,019$), tomamos o factor Raça como estatisticamente relevante. Fica aqui patente que, mesmo diferenças genéticas não muito relevantes, uma vez que lidamos com animais da mesma espécie, são o suficiente para influenciar a reacção ao parasitismo gastrointestinal.

Mês

Variáveis “McMasterAnoLS” e “MesLS”, tendo o factor “Mes” doze níveis, os correspondentes aos meses do ano, sendo o primeiro mês tomado em consideração o mês de Maio pois foi o primeiro a ter recolha.

Podemos, ao longo dos meses observar variações, e de acordo com este resultado podemos também assumir que estas variações são estatisticamente relevantes (0,017), dando-nos mais um factor que tem uma grande preponderância no resultado final.

8. Discussão

8.1. Núcleos individuais

Após a recolha dos dados cabe-nos, neste capítulo, fazer uma interpretação, à luz de premissas já estabelecidas, do que observámos e como podemos explicá-lo.

Iremos seguir, quase na totalidade, a mesma sequência aplicada nos resultados, com a excepção da análise do factor “consanguinidade”, devido à sua importância e relevância neste trabalho em particular. Este factor será, assim, discutido em último lugar.

Nas contagens pelo método de McMaster obtivemos 99,98% de prevalência.

Outros trabalhos documentam prevalências da mesma ordem ou mais baixas. Tavassoli (2010) observou uma prevalência de *estrongilídeos* de 72,9% nas suas amostras, sendo desses 97,6% larvas de *ciatostomíneos*. Pereira (2006) indica prevalências da ordem dos 100% para *ciatostomíneos* e de 70% para *estrongilíneos*.

Podemos agora, tendo em conta os factores já revistos anteriormente, comparar com os resultados de Tolliver (1987) que embora encontrasse prevalências de 100% para *ciatostomíneos*, encontrava também prevalências da ordem dos 84% para *estrongilíneos*. Estes resultados tornam bastante palpável a noção de que os desparasitantes estão a retirar a preponderância um dia tida pelos grandes *estrongilídeos* e que devido à pressão selectiva desenvolvida por estes fármacos está a passar para os pequenos *estrongilídeos* (Lichtenfelset al., 2002).

Bowman (2004) menciona ainda a vantagem competitiva que existe na grande diferença entre períodos pré-patentes bem como de produção de ovos, apontando estes factores como adjuvantes ao declínio dos grandes *estrongilídeos* como os principais intervenientes no parasitismo gastrointestinal em equídeos. Das 240 amostras recolhidas apenas 6 foram negativas, tendo todas elas ocorrido após o mês de Maio e até ao mês de Agosto, reflectindo a importância dos factores abióticos.

Pudemos verificar que os valores aferidos foram muito altos ($\bar{x}_{\text{anual}} = 1387,708$), indicadores de níveis de infecção muito elevados, de acordo com Graber (1983). Alguns autores (Lloyd & Soulsby, 1998 e Lloyd *et al.*, 2000) definem o limite necessário para a desparasitação como 200 OPG, mas num conjunto de animais a campo com períodos de grande disponibilidade de erva e de água este limite seria muito inferior.

Iremos optar, para análise de hipótese, pelo limite mais abrangente sugerido por Madeira de Carvalho (2007) de 500 OPG. Ao longo do ano foram raras as vezes em que obtivemos contaminações individuais inferiores, e o valor da média nunca passou essa fronteira, indicando a necessidade de desparasitação mesmo levando em conta um limite menos conservador e defensor da eficiência dos medicamentos. Já foi mencionado antes que os *ciatostomíneos* em particular, têm uma grande capacidade de adaptação ganhando rapidamente resistência, (Varady *et al.*, 2004), obrigando ao desenvolvimento de medicamentos mais fortes e dosagens maiores que podem acarretar consequências para o hospedeiro também.

Ao longo do ano pudemos observar, como documentam Duncan & Love (1988,1990) e Soulsby

(1986), dois picos de eliminação de ovos muito pronunciados, nos meses de Abril e de Outubro no conjunto dos três núcleos, distribuição esta apoiada também por trabalhos mais recentes de Herd et al., (1985); Slocombe et al., (1987); e Baudena et al., (2000). No entanto, quando analisados em separado, podemos ver um cenário de grande variação entre cada núcleo: o núcleo Sorraia tem apenas um pico, o núcleo Alter tem os dois já documentados e o núcleo de Cavalos de Przewalski tem três. Este facto suscita-nos algum interesse pois Duncan & Love (1988, 1990) e Soulsby (1986) não terão tido acesso a núcleos de outras espécies como é o dos Cavalos de Przewalski nem a núcleos de raças pouco seleccionadas como é o núcleo Sorraia, levando a crer na necessidade de um estudo mais aprofundado para garantir que esta concepção de dois picos anuais é extrapolável. Pensamos que no caso dos Cavalos de Przewalski o grande factor é a presença de água ainda que durante alturas de baixas temperaturas. No entanto para as Sorraias parece que embora com temperaturas amenas e disponibilidade de água não se verificam outros picos para além registado. Podemos observar pelas trendlines colocadas nos gráficos de linhas para cada raça (gráficos 9,10 e 11) que a única população a registar uma tendência de aumento ao longo do ano é a dos Cavalos de Przewalski.

No entanto outros equídeos com características bravias, como os garranos do Parque Nacional da Peneda-Gerês, apresentaram também três picos de OPG (na Primavera, Verão e Outono) e a prevalência e abundância dos estrongilídeos estavam positivamente correlacionados com a precipitação e humidade relativa e negativamente com a temperatura, à semelhança do observado para os cavalos de Przewalski (Madeira de Carvalho, 2001; Madeira de Carvalho, Oom, Gomes, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2008)

Podemos especular sobre o factor Erva. Sabemos que erva muito alta ou muito densa representa um factor prejudicial à mobilidade das larvas, bem como a sua grande quantidade reduz a probabilidade de que os animais consumam erva infectada. No entanto, Medica *et al.* (1986) também refere a afinidade que as larvas têm pelas fezes e urina, afinidade essa não partilhada pelos equídeos aquando do desenvolvimento da actividade de pastoreio.

Na análise somatória deste estudo observa-se o prolongamento destes picos por Maio-Abril e Outubro-Novembro, alturas correspondentes à Primavera e ao Outono. Para estes picos verificamos temperaturas da ordem dos 20-25 °C, que estão incluídas no intervalo de valores estabelecido por Rupasinghe & Ogbourne, (1978); Reynemeyer, (1986); Soulsby, (1986) e Mfitilodze & Hutchinson, (1987), de 20-33 °C.

Nos restantes meses do ano temos um nível de parasitismo, ainda assim muito alto em comparação com outros animais e com o limite sugerido por Madeira de Carvalho (2007). No Verão sabemos que a redução do parasitismo se deve à indisponibilidade de água e de erva para completar o ciclo, enquanto que no Inverno sabemos que se deve às baixas temperaturas.

No caso do Verão, e como referimos na Caracterização da Área de Estudo, temos um balanço hídrico que nos explica a ausência de erva. Para a indisponibilidade de água na vertente humidade a explicação é-nos dada por Mfitilodze & Hutchinson (1987) que referem 14% como o valor mínimo de humidade na massa fecal necessário ao desenvolvimento larvar. Sabemos também que a temperatura é uma condicionante. Rupasinghe & Ogbourne (1978) e Mfitilodze &

Hutchinson (1987) referem as temperaturas máximas como sendo 38°C e 35°C respectivamente, e no Alentejo durante o Verão estas temperaturas são bastante usuais.

Nesta altura do ano os Cavalos de Przewalski apresentam contagens próximas de 0, como é possível observar no gráfico 10 de contagens de OPG pelo método de McMaster. As fezes mostravam-se de tal forma secas que boiavam quando colocadas no copo para fazer as coproculturas. Esta conjuntura de temperatura muito alta e a baixa percentagem de humidade são devastadores para os parasitas, e os Cavalos de Przewalski parecem aproveitar ao máximo a água ingerida, excretando-a ao mínimo nas fezes e portanto não proporcionando as condições necessárias para a eclosão dos ovos ou sequer para a sua sobrevivência.

No Inverno, a grande condicionante que influencia a redução das contagens é a temperatura, Rupasinghe & Ogbourne (1978) estabelecem o limite entre os 8-38°C, Mfitlodze & Hutchinson (1987) entendem este limite como estando compreendido entre os 10°C e os 35°C. Também é possível observar na Caracterização da Área de Estudo que os meses de Janeiro e Fevereiro se caracterizam por temperaturas médias da ordem dos 10-15°C significando que grande parte dos ovos, mais de metade de acordo com Ogbourne & Duncan, (1985), morre antes da eclosão da larva. Kuzmina *et al.* (2006) estudam também os efeitos que tem a congelação e descongelação diária da película de água pela qual as larvas se movem nas horas crepusculares do dia, verificando um efeito devastador na sua sobrevivência.

Baudena *et al.* (2000) num estudo sobre a variação sazonal no Estado do Louisiana, numa latitude ligeiramente inferior à de Portugal, verificam uma relação positiva entre o desenvolvimento do parasitismo e os meses de Setembro até Março, verificando também uma queda nestes valores durante os meses quentes, Abril a Agosto. Estes resultados são também condizentes com os obtidos por outros autores (English, 1979a; Craig *et al.*, 1983; Courtney and Asquith, 1985; Mfitlodze and Hutchinson, 1988; Hutchinson *et al.*, 1989) noutros estudos em regiões tropicais ou sub-tropicais.

Não se tratando Portugal de um país tropical ou sub-tropical verificam-se, na generalidade, as mesmas condições, climáticas dessas regiões, ou seja, Invernos mais amenos, de tal forma que não impossibilitam o desenvolvimento larvar, embora o reduzam nos meses de Janeiro e Fevereiro, e Verões que, embora secos, motivam também altos níveis de parasitas na pastagem, com especial importância em pastagens de regadio (Madeira de Carvalho, 2001; Madeira de Carvalho *et al.*, 2005).

8.1.1. Interpretação dos resultados do núcleo Alter

O ajustamento do modelo não é elevado. Quanto ao factor erva sabemos que unitariamente representa pouco mas que é relevante. Os motivos não deverão variar muito em relação à análise conjunta feita anteriormente. A alimentação e condições atmosféricas foram as mesmas para todos os indivíduos em estudo.

As diferenças começam a ser patentes nos factores levados em conta e que variam de núcleo para núcleo. As éguas Alter, no conjunto da população, são consideravelmente mais novas do que as Sorraias, pelo que se espera que sejam mais susceptíveis ao parasitismo em relação a este

factor. Na sua análise de regressão, a variação unitária da idade, em anos, representa uma redução de cerca de 18 OPG.

Uma vez que estes animais não são desparasitados com regularidade, temos uma visão mais clara da importância de cada factor. Sabemos que após uma desparasitação existe um PRO (período de reaparecimento de ovos) e que após este, voltamos a atingir um equilíbrio. Ora nestes animais este equilíbrio já foi atingido há muito tempo, logo as variações observadas terão de se dever às adaptações que o sistema hospedeiro-parasita faz quando variam as condições a que está sujeito. É nesta variação de condições que se encontra o aumento da idade e o que se está a tentar medir é o quão relevante quantitativamente é esta adaptação. Sabemos numericamente que, a relevância destes factores varia entre raças/espécies e é neste ponto que entendemos a Raça como um factor importante.

Em relação ao factor Mês a análise conjunta demonstra o mesmo resultado que o do núcleo Alter, dando grande importância à progressão temporal do ciclo parasitológico.

Por fim, o factor Consanguinidade tende a ser estatisticamente relevante. Com o valor de p-value observado não há uma conclusão segura e comparando com o valor obtido pelo núcleo Sorraia vemos que as Lusitanas, sendo uma população muito menos consanguínea, sofrem com este factor muito mais do que as Sorraias.

8.1.2. Interpretação dos resultados do núcleo de Cavalos de Przewalski

Devido ao número de elementos ser muito reduzido, esta análise é estatisticamente pouco significativa e é muito difícil conferir a estes resultados alguma capacidade de extrapolação para a restante população de Cavalos de Przewalski.

A Erva mantém-se como factor relevante pelos motivos já mencionados.

A Idade deste núcleo não é muito avançada, mas também não é uma população jovem, pelo que a relevância deste factor nos resultados obtidos dever-se-á situar entre os outros dois núcleos.

Relativamente ao factor tempo, podemos observar que à semelhança do que se passa com as Alter, a altura do ano em que se faz a recolha é também relevante para os Cavalos de Przewalski. Este facto é bastante saliente em todos os gráficos apresentados. Os Cavalos de Przewalski não apresentam os dois picos anuais e a sua curva parasitológica caracteriza-se ao longo do ano por uma grande variabilidade que pensamos dever-se à disponibilidade de água.

É facto conhecido que no intestino grosso se faz alguma recuperação de água, mas no caso dos Przewalski, em particular no Verão, esta recuperação é levada ao extremo. Não temos como medir o aproveitamento pois não temos dados sobre o que foi ingerido *versus* o que foi excretado. No entanto, reportando-nos à história que os precede, é condição normal em animais que vivem em desertos, a capacidade de armazenar água, bem como em períodos de seca extraí-la dos alimentos com mais sucesso (Sneddon *et al.*, 1991).

8.1.3. Interpretação dos resultados para o núcleo Sorraia

A regressão parece conseguir explicar grande parte dos resultados obtidos, o que confere alguma

segurança na interpretação que se faz. Nos resultados obtidos na regressão podemos observar que o aumento unitário em um ano produz uma variação menor nas Sorraias do que nas Alter. Os resultados obtidos evidenciam que uma população mais nova apresenta uma influência por parte da idade mais relevante.

O núcleo Sorraia tem uma particularidade. Embora a regressão pareça explicar grande parte dos dados (coeficiente de determinação=0,7397), nenhum factor se encontra abaixo do limiar dos 0,05 nos testes de Kruskal-Wallis, aliás encontram-se todos bastante longe. Nesta fase consideramos que os factores estudados são aqueles a que tivemos acesso mas talvez não sejam os mais relevantes no parasitismo gastrointestinal do núcleo Sorraia. No entanto, de acordo com Monteiro (1985), se o Sorraia é o antecessor do cavalo Lusitano seria de esperar que os factores que influenciam um também influenciassem o outro. Por outro lado, e porque temos uma regressão que explica grande parte dos resultados obtidos, será de assumir que os nossos factores são aqueles que mais bem modelam a predição. Uma outra alternativa será o facto de que os Cavalos do Sorraia já lidam há muitas gerações com elevados níveis de consanguinidade, pelo que já se adaptaram à mesma. Sendo detentores de um *pool* genético muito filtrado poderão ter retido os genes favoráveis, estando muito bem adaptados a condições desfavoráveis. Talvez com o prolongamento deste estudo ao longo de mais tempo se consiga evidenciar um factor em particular ou uma interacção entre factores que justifique estas variações, bem como o quão diferentes elas são de núcleo para núcleo.

8.2. Conjunto dos núcleos Alter e Sorraia

Em relação à Coprocultura já estabelecemos que é um factor apenas indicador do rigor do método de McMaster e, de acordo com os dados obtidos, podemos afirmar que o método de McMaster é barato, expedito, rápido e, bastante rigoroso, independentemente das dúvidas que nos levante a capacidade de amostragem e extrapolação.

Por este motivo, neste e noutros trabalhos, entendemos que este é um método a seguir pela sua simplicidade, sem perda da capacidade de extrapolação. No caso dos núcleos de Cavalos de Przewalski e Sorraia esta extrapolação não seria necessária pois todos os elementos do núcleo constam da amostragem realizada no trabalho. No entanto, existem outras populações de Cavalos de Przewalski e de Sorraias no mundo, podendo este trabalho ser um indicador do que poderá ocorrer sob determinadas condições de produção, manejo e ambientais.

Uma vez que estabelecemos as contagens pelo método de McMaster como um bom indicador fizemos toda a nossa análise circular sobre esta variável resposta.

Assim sendo, e reportando-nos aos testes de Kruskal-Wallis para cada factor vamos agora interpretá-los de acordo com os resultados para os núcleos em conjunto, já não fazendo a análise do factor Coprocultura, pois já provou a sua utilidade.

Começamos pelo factor Erva. Seria de esperar importância por parte deste factor e assim corresponderam os resultados. Três dos cinco estádios são passados na erva e é o seu consumo que permite a reinfecção do hospedeiro. Sabemos que a erva possibilita também a deslocação das larvas desde as fezes até um ponto em que os animais se alimentem uma vez que não o

fazem junto das fezes. O tamanho da erva é também importante pois os equídeos são animais com capacidade limitada de pastoreio, pois apenas conseguem consumir erva a partir de uma determinada altura.

Sabemos também que durante os meses de Verão na zona do Alentejo não há erva, levantando-nos o problema de recontaminação de uma pastagem que não existe. É deste ponto de vista que entendemos como perfeitamente natural, mais do que por causa da temperatura ou da humidade, que as contagens sejam muito mais reduzidas. Sabemos também que é no Outono que a migração de *S. vulgaris* termina e portanto que há maior eliminação de ovos, sugerindo também alguma evolução adaptativa por parte dos estrongilídeos. O hospedeiro aumenta a eliminação de ovos exactamente na altura em que começa a ser viável a sua sobrevivência no meio exterior.

Seguidamente passamos ao factor Idade. Sabemos que quanto mais velho é um equídeo menor é o grau de parasitismo a que está sujeito Klei & Chapman, (1999), declaram existir uma correlação negativa entre a idade e os ovos eliminados nas fezes, consistente com o desenvolvimento de imunidade apresentando os equídeos mais novos níveis de OPG mais elevados (Osterman Lind et al., 1999; Döpfer et al., 2004; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2006; e Becher et al., 2010).

A nossa regressão linear prova isso mesmo para todas as populações estudadas neste trabalho. Num conjunto hospedeiro-parasita que se mantém há 75 milhões de anos terá necessariamente que haver alguma adaptação, pelo que assumimos como normal que ao longo da vida de um equídeo que o conjunto hospedeiro-parasita encontre um equilíbrio.

Sabemos que os poldros são aqueles que mais sofrem, tanto em quantidade como em tipo de parasitas presentes. De acordo com Madeira de Carvalho *et al.* (2007) os poldros são os mais afectados tanto em quantidade, nível de OPG, como em tipo de parasitas apenas precedidos pelos asininos.

Por fim, o factor Consanguinidade tem uma importância grande. Podemos observar que é um factor relevante e agravador do parasitismo gastrointestinal, indiciando que animais mais consanguíneos sofrerão mais com parasitas. Observando a correlação entre os dois factores obtemos valores baixos, no entanto com um nível de significância 0,05 podemos ver que o $p\text{-value} = 0.002296$ demonstra que este valor é relevante.

Deve ser tomado em consideração que os níveis de consanguinidade dos indivíduos dos diferentes núcleos têm diferentes distribuições. O núcleo Alter tem a grande maioria dos seus indivíduos com baixo nível de consanguinidade e os restantes com alto nível de consanguinidade, significando que não há valores intermédios. Pelo contrário, no núcleo Sorraia todos os indivíduos têm valores altíssimos de consanguinidade. Em termos de inferência este facto não representa um problema mas é digno de ser revisto descritivamente.

Passamos à interpretação da importância de cada um destes factores de acordo com os testes de Kruskal-Wallis.

De todos os factores testados, a erva, a consanguinidade, o mês e a raça têm importância estatística comprovada. De acordo com Herd (1986b), já foi demonstrada a existência de picos sazonais levando-nos a crer que a altura do ano é um factor importante. Aliás neste trabalho é possível observar estes dois picos sugerindo a importância deste factor. Duncan & Love (1990)

explicam o pico sazonal primaveril com a maturação dos pequenos strongilídeos, até então em hipobiose.

O factor Raça é também relevante, mas para comprovar mais a fundo precisaríamos de mais tempo e de outros métodos, provavelmente com recurso à genética para determinar resistência ou susceptibilidade. Com os dados disponíveis podemos adiantar que parece haver uma forma diferente de lidar com os parasitas por parte de cada raça.

Em relação às contagens de larvas L3 em coproculturas podemos verificar uma prevalência de 99,99167% portanto a quase totalidade das coproculturas identificou larvas L3. Dentro desta quase totalidade temos a presença de apenas dois tipos de organismos, *Strongylus vulgaris* e *Cyathostomum sensu latum*, e a sua prevalência individual é de 100%.

Ao longo do ano as coproculturas mantiveram as mesmas percentagens relativas de cerca de 80-20%, sendo o maior grupo o dos ciatostomíneos. Houve uma pequena variação verificada em Setembro em que os *Strongylus vulgaris* registaram um aumento da sua percentagem relativa, atingindo os 40%. Este facto fora já explicado por Duncan & Love (1990) in Madeira de Carvalho (1991) em que a migração e a maturação de *S. vulgaris* no Hemisfério Norte: “Nos países quentes temperados, que apresentam Inverno húmido com temperaturas moderadas e um Verão seco, o nível máximo de L3 na pastagem é atingido no Outono”.

8.3. Interpretação do factor consanguinidade

Por fim e analisando especificamente os resultados obtidos relativamente à Consanguinidade, reparamos que um nível de consanguinidade mais elevado (como no caso do núcleo de Sorraias), representa uma influência menor deste factor do que numa população muito menos consanguínea como é o caso do núcleo Alter.

De momento, e porque é a primeira vez que se obtem dados sobre este problema, não existe literatura que nos possa ajudar a interpretar os resultados obtidos. A continuação deste trabalho parece ser um caminho a tomar por forma a obter mais informação.

9. Conclusões

Neste estudo ficam patentes as diferentes variações que factores comuns a todos os núcleos podem ter. Podemos observar que as espécies/raças presentes têm mecanismos diferentes para lidar com as condições a que estão sujeitas ao longo do ciclo produtivo. Conseguimos, estatisticamente, determinar que alguns factores têm influência directa no índice de parasitismo gastrointestinal, e naqueles que são quantitativamente mensuráveis conseguimos quantificar o quanto representam esses mesmos factores em ovos por grama. Compreendemos os factores intrínsecos de cada animal que influenciam o respectivo nível de parasitismo, a Idade e a Consanguinidade, bem como as diferenças encontradas entre raças/espécies. Há diferenças óbvias entre éguas Alter e Sorraias e a análise conjunta com apenas estes dois núcleos vem sublinhar essas diferenças. Na verdade, o grande problema desta análise é que para o núcleo Sorraia não existem factores estatisticamente significativos. Assim sendo é-nos difícil identificar sem margem para dúvida qual o factor que influencia de forma determinante as diferenças encontradas entre raças.

Estatisticamente, o teste de Kruskal-Wallis também deixa algumas questões por resolver, uma vez que apenas analisa um factor de cada vez, tornando impossível a verificação de efeitos de interacção entre os vários factores considerados.

De acordo com os resultados obtidos, percebemos a necessidade de efectuar um programa de desparasitação na Coudelaria de Alter Real, pois qualquer dos núcleos está muito acima de qualquer dos níveis que queiramos considerar, 200 OPG (Lloyd & Soulsby, 1998 e Lloyd *et al.*, 2000) ou os 500 OPG (Madeira de Carvalho, 2007).

Em termos de manejo, haverá pouco a fazer para reduzir os níveis de parasitismo, pois as folhas da pastagem são grandes demais e a rotação de pastagem por núcleos diferentes não impede novas recontaminações. Os grandes factores limitantes do parasitismo, neste estudo, são a disponibilidade de água e a temperatura. Poderíamos, ao início, assumir que estes dois estariam estreitamente associados à existência e qualidade da erva. No entanto descobrimos ao longo do trabalho que mesmo sem erva podemos ter níveis significativos de parasitismo. Este facto deverá sugerir alguma adaptação por parte dos parasitas no capítulo do desenvolvimento exterior e alguma variação na forma de reinfecção clássica por parte do hospedeiro quando se alimenta de erva infectada.

10. Considerações finais

Ao longo deste trabalho foram abordados diversos aspectos de modo a caracterizar o parasitismo gastrointestinal de diferentes núcleos de equídeos da Coudelaria de Alter Real.

Pudemos identificar os de maior importância e quantificá-los, possibilitando, numa eventual continuação deste trabalho, uma abordagem mais objectiva em relação aos factores mais relevantes.

Ao nível parasitológico, a influência exercida pelos factores abióticos não é suficiente para controlar o nível de infecção e mantê-lo abaixo dos valores de OPG entendidos como recomendáveis.

Os factores intrínsecos de cada raça, e dentro destas, de cada animal, variam consideravelmente atestando que há muitas formas de lidar com o parasitismo a que se está sujeito. No entanto estes factores também não têm influência suficiente para manter o nível de infecção baixo. Tendo em conta estas duas observações parece não só exequível como necessária a desparasitação com recurso a anti-helmínticos.

Parece-nos também necessário o desenvolvimento de um programa de monitorização dos níveis de parasitismo: ainda que não se venha a desparasitar os animais a informação é sempre importante.

Mais ainda, num cenário de não desparasitação e com animais a campo o ano inteiro, a aplicação de programas mais inovadores e potencialmente mais económicos toma um interesse renovado.

A desparasitação por recurso a anti-helmínticos não é o único caminho, e pode até nem ser o melhor. Damos como exemplo a *Duddingtonia flagrans*, um fungo nematófago que parece ter algum sucesso na redução da contaminação da pastagem e portanto na redução da reinfecção dos animais.

Este tipo de soluções demonstra o seu mérito, já que são meios ecológicos e não têm contra-indicações, como sejam a sub ou sobre dosagem, pois é simplesmente a introdução de um organismo que controla o desenvolvimento populacional de outro. Necessitam de um estudo mais aprofundado para optimizar a sua utilização mas parecem ter futuro, numa altura em que é tão importante o uso racional dos anti-helmínticos, bem como os resultados que se obtêm desse uso.

A Coudelaria possui recursos genéticos de grande importância como são os Sorraias, (raça de efectivo muito reduzido e alvo de um importante programa de conservação), os Alter que são o motivo de existência da Coudelaria e os quatro elementos de Cavalos de Przewalski (espécie emblemática de conservação *ex-situ* que já se encontrou extinta na Natureza e foi recentemente re-introduzida no meio natural).

Pela história que os precede bem como pela antiguidade merecem a maior atenção, quer institucional, quer através das visitas guiadas à Coudelaria, nas quais seria interessante e formativo poder observar estes três núcleos.

11. Bibliografia

- ANDRADE, R. d' (1926). Apontamentos para um estudo sobre a origem e domesticação do cavalo na Península Ibérica. Aproximações. Lisboa: Centro Tipográfico Colonial.
- ANDRADE, R. d' (1937). Les cheveaux du Sorraia. Comptes Rendues du XII Congrès International de Zoologie, Lisboa (1935): 2368-2370.
- ANDRADE, R. d' (1945). O Cavalo do Sorraia. Boletim Pecuário, Ano XIII, 13: 105-107.
- ARCHER, M. (1980) – Grassland management for horses . Vet. Rec., 107 (8), p. 171-174.
- BAUDENA, M. A., M. R. CHAPMAN, et al. (2000). "Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana." Vet Parasitol 89(3): 219-230.
- BECHER, A.M., MAHLING, M., NIELSSEN, M.K. & PFISTER, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): na investigation into strongyle egg shedding consistency. Veterinary Parasitology, 171(1-2): 116-122.
- BEZERRA, S. Q., MACHADO DE COUTO, M. C., MOURA DE SOUZA, T., BEVILAQUA, C. M. L., DASILVA ANJOS, D. H., MACHADO SAMPAIO, I. B., Rodrigues, M. L. A, (2007) Ciatostomíneos (Strongylidae-Cyathostominae) parasitas de cavalos: Ecologia experimental dos estágios préparasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon spp.* cv. Tifton 85) na baixada Fluminense, RJ, Brasil, Parasitol Latinoam 62: 27- 34.
- BOXELL, A. C., K. T. GIBSON, et al. (2004). "Occurrence of gastrointestinal parasites in horses in metropolitan Perth, Western Australia." Aust Vet J 82(1-2): 91-95.
- BOYD, L. & HOUP, K. A. (1994) – Przewalski's Horse, State University of New York, Albany, United States of America
- BOWMAN, D.D., LYNN, R.C., EBERHARD, M.L. & ALCARAZ, A. (2003). Georgis' Parasitology for Veterinarians, (8ª edição), (pp. 174-180; 287-300). Philadelphia W.B. Saunders Company.
- BOWMAN, D. D. (2004) Parasitologia Veterinaria de Georgi, Elsevier España.
- BRACKEN, M. K., C. B. WOHLK, et al. (2011). "Evaluation of conventional PCR for detection of *Strongylus vulgaris* on horse farms." Vet Parasitol.
- BRAGA, F. R., J. V. ARAÚJO, et al. (2009). "[In vitro evaluation of nematode predacious fungus *Duddingtonia flagrans* on cyathostomes infective larvae of equines (Nematoda: Cyathostominae)]." Rev Bras Parasitol Vet 18 Suppl 1: 83-85.
- BUCKNELL, D. G., R. B. GASSER, et al. (1995). "The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia." Int J Parasitol 25(6): 711-724.

- CHAPMAN, M. R., D. D. FRENCH, et al. (2003). "Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana." *J Parasitol* 89(2): 309-314.
- COLLOBERT-LAUGIER, C., HOSTE, H., SEVIN, C. & DORCHIES, P. (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, 110 (1-2): 77-83.
- CORNING, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasite & Vectors*, (2 Suppl 2), S1: 1-6.
- COURTNEY, C. H. and R. L. ASQUITH (1985). "Seasonal changes in pasture infectivity by equine cyathostomes in north central Florida." *Equine Vet J* 17(3): 240-242.
- COURTNEY, C.H. (1999). Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 173-177.
- CRAIG, T. M., J. M. BOWEN, et al. (1983). "Transmission of equine cyathostomes (Strongylidae) in central Texas." *Am J Vet Res* 44(10): 1867-1869.
- DARWIN, C. (1868). *Variation of Plants and Animals under Domestication*. New York: D. Appleton & Co. 1883.
- DIPIETRO, J.A. et al. (1990) - Contemporary Topics in Equine Parasitology. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. V. 12, p. 713-716, 718-721.
- DÖPFER, D., KERSSENS, C.M., MEIJER, Y.G., BOERSEMA, J.H. & EYSKER, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in Dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology*, 124 (3-4): 249-58.
- DUNCAN, J. L. (1982). Internal Parasites of Horses: Treatment and control. In *Practice*, vol. 4 (6), p. 183-188.
- DUNCAN, J. L. (1985). Internal parasites of the horse and their control. *Equine Vet J*, vol. 17, p 79-82
- DUNCAN, J.L., BAIRDEN, K., ABBOTT, E.M., (1998) Elimination of mucosal cyathostome larvae by five daily treatments with fenbendazole. in *Vet. Rec.*, 142 (11): 268-271.
- DUNCAN, J.L & LOVE, S (1990) – Strongylose équine à *S. Vulgaris*. *Point Vet.*, 21 (126), p. 849-857
- DUNN, A. M. (1978) – *Veterinary Helminthology*. 2nd Ed. William Heinemann Medical Books Ltd. London, Great Britian. p. 323.
- DUNSMORE, J. D. and L. P. JUE SUE (1985). "Prevalence and epidemiology of the major gastrointestinal parasites of horses in Perth, Western Australia." *Equine Vet J* 17(3): 208-213.

- ENGLISH, A. W. (1979) - The Epidemiology of Equine Strongylosis in Southern Queensland. 2. The survival and migration of infective larvae on herbage. Aust. Vet. J., 55 (7): 306-309.
- ENGLISH, A. W. (1979) – The Epidemiology of Equine Strongylosis in Southern Queensland. 1. The bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. Aust. Vet. J., 55 (7): 299-305.
- EUZÉBY, J. (1958) – Diagnostic expérimental des helminthoses Animales. Travaux pratiques des helminthoses animales. 1^a edição, Vigot Frères Éditeurs.
- EUZÉBY, J. (1982) - Diagnostic Experimental des Helminthoses Animales. (Animaux Domestiques – Animaux de Laboratoire – Primates). Travaux Pratiques d'Helminthologie Vétérinaire. Livre 2. Diagnostic direct post-mortem. Diagnostic indirect (Diagnostic biologique). Edição de "Informations Techniques des Services Vétérinaires", Ministère de l'Agriculture, Paris, France.
- EYSKER, M & JANSEN, J (1984) – Inhibited Development of Cyathostominae in the Horses in the early third stage. Res. Vet. Sci, 37: 355-356.
- EYSKER, M. (2007) The use of age-clustered pooled faecal samples for monitoring worm control in horses Veterinary Parasitology 151: 249–255
- EYSKER, M. et al. (1990) – Seasonally Inhibited Development of Cyathostominae Nematodes in Shetland ponies in the Netherlands. Vet. Parasitology, 36: 259-264.
- EYSKER, M., J. JANSEN, et al. (1986). "Control of strongylosis in horses by alternate grazing of horses and sheep and some other aspects of the epidemiology of Strongylidae infections." Vet Parasitol 19(1-2): 103-115.
- GAWOR, J. (2000). "Occurrence of Strongylidae (Nematoda: Strongyloidea) in Polish horses "tarpan" from Popielne Reserve." Wlad Parazytol 46(1): 87-92.
- GEORGI, J, R (1982) – Parasitologia Veterinária. 3^a Edição. Editora Interamericana, Rio de Janeiro. p. 353.
- GIBBS, H. C. (1986) – Hypobiosis and the periparturient-rise in sheep. The Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice, 2, p. 344-353.
- GUERRA, A (1995) – Plínio-o-Velho e a Lusitânia, Edições Colibri, Lisboa, Portugal
- HASSLINGER, M.-A. & BITTNER G. (1984) – Zur saizondynamik der larven von pferdestrongyliden und deren beziehung zum infektionsrisiko auf der weide. Zentbl. VetMed. , 31, p 25-31.
- HERD, R.P. & WILLARDSON, K.L. (1985) – Seasonal distribution of infective strongyle larvae on horse pastures. Equine. Vet. J., 17: 235 – 237.
- HERD, R.P. (1986) – Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket . Equine Vet. J., 18 (6): 447-452.

- HERD, R.P. (1986a) – Epidemiology and control of parasites in northern temperature regions · “In”
HERD, R. P. (Editor) – The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice, Parasitology, 2
(2):337-355.
- HERD, R.P. (1990) – The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the decline of
Strongylus vulgaris. Comp. Cont. Educat. Pract. Veter. The Compendium. Equine: 732-735.
- HERD, R.P. (1991) - Cattle Practitioner: Vital Role in Worm Control. Comp. Cont. Educ. Prac.Vet.,
13 (5): 879-888.
- HERD, R.P. et al. (1985) – Epidemiological approach to the control of horse strongyles . Equine
Vet. J., 17 (3): 202-207.
- HODGKINSON J., E. (2004) Seasonal development of Cyathostominae larvae
- HUTCHENS, D.E. & DIPIETRO, J.A. (1996). The Effect of Biweekly Treatment With
Fenbendazole on Benzimidazole-Resistant Small Strongyles. Equine practice, 18 (2): 10-13.
- HUTCHINSON, G.W. et al. (1989) Seasonal translation of equine strongyle infective larvae to
herbage in tropical Australia. Vet. Parasitol. 33: 251-263.
- KAPLAN, R. M., T. R. KLEI, et al. (2004). "Prevalence of anthelmintic resistant cyathostomes on
horse farms." J Am Vet Med Assoc 225(6): 903-910.
- KLEI ,T., R. (1999) Immunity in equine cyathostome infections Veterinary Parasitology
- KUZMINA, T., A. (2008) Anthelmintic resistance in cyathostomins of brood horses in Ukraine and
influence of anthelmintic treatments on strongylid community structure, Veterinary Parasitology,
vol. 54: 277-288
- KUZMINA, T.A., TOLLIVER, S.C. & LYONS, E.T. (2011). Three recently recognized species of
cyathostomes (Nematoda: Strongylidae) in equids in Kentucky. Parasitology Research, 108 (5):
1179-84.
- KUZMINA, T.A., KUZMIN, Y.I. & KHARCHENKO, V.A. (2006). Field study on the survival, migration
and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. Veterinary
Parasitology, 141 (3-4): 264-72.
- LARSEN, M. (2000). "Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro
fungi." Parasitology 120 Suppl: S121-131.
- LARSEN, M., P. NANSEN, et al. (1995). "Predacious activity of the nematode-trapping fungus
Duddingtonia flagrans against cyathostome larvae in faeces after passage through the
gastrointestinal tract of horses." Vet Parasitol 60(3-4): 315-320.
- LARSEN, M., P. NANSEN, et al. (1997). "Biological control of gastro-intestinal nematodes--facts,
future, or fiction?" Vet Parasitol 72(3-4): 479-485; discussion 485-492.

- LEITÃO, J. L. (1978). Prática do combate às parasitoses dos animais em Portugal (I vol. Aracno-Entomozooses). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- LICHTENFELS, J. R., L. M. GIBBONS, et al. (2002). "Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses." *Vet Parasitol* 107(4): 337-342.
- LICHTENFELS, J. R., V. A. KHARCHENKO, et al. (2008). "Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae)." *Vet Parasitol* 156(1-2): 4-161.
- LICHTENFELS, J.R. et al. (1998) - An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Vet. Parasitol.*, 79 (1): 65-79.
- LOVE S., DUNCAN J., L. (1988) - The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies, *Veterinary Parasitology*, Volume 44, Issues 1-2: 127-142
- LOVE, S. & DUNCAN, J.L. (1988) – Parasitisme à “petits strongles” chez le cheval . *Point vét.*, 20: 457-463.
- LOVE, S. (1999) - Pathogenicity of cyathostome infection, *Veterinary Parasitology* 85: 113–122
- LYONS, E.T. et al. (1999) - Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. p. 97-111. “In” LITTLE, S.A.; MOORE, J.N.; DIPIETRO, J.A. (Eds.) Special issue: Equine Cyathostome Conference. Proceedings of a Conference on Equine Cyathostomes held at the University of Georgia, Athens, GA, 7-8 November 1998. *Vet. Parasitol.*, 85: 95-225.
- LOVE, S., ESCALA, J., DUNCAN, J.L. & MACLEAN, J.M., (1991). Studies on the pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Equine Infectious Disease VI, Proceedings of the 6th International Conference of Equine Infectious Diseases*, Cambridge, Newmarket, R and W Publications: 149-155.
- LYONS, E.T. et al. (2000) – Larval Cyathostomiasis. p. 501-513. “In” TIMONEY, P.J. (Ed.). *Vet. Clin. North Amer., Equine Practice, Emerging Infectious Diseases*, 16: 387-628.
- LYONS, E.T. et al. (2000) - Prevalence of selected species of internal parasites in equids at necropsy in central Kentucky (1995-1999) *Veterinary Parasitology* 92: 51–62
- LYONS, E.T. & TOLLIVER, S.C. (2003). Field test data on small strongyles in evaluation of activity of fenbendazole given once a day for 5 consecutive days to thoroughbred yearlings on two farms in Kentucky in 2002 and 2003. *Parasitology Research*, 91 (4): 312-5.
- MADEIRA DE CARVALHO, L. M. (1991) – Contribuição para o estudo dos estrongilídeos (Nematoda: Strongyloidea) do cavalo em Portugal Continental. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa: 11-54.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (1999) - Horse strongyles L3 larval stages. Morphological characters relevant for their identification. 17th Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology Workshop, "Systematics of the Cyathostominae of Horses". 1. Morphological characterization and identification of species: b. Larvae. 19th August 1999, Copenhagen, Denmark.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2001) – Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal. Tese de Doutoramento, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M., AFONSO-ROQUE, M.M. & CARVALHO-VARELA, M. (2004) A preliminary study on the prevalence and site distribution of strongyles in the large intestine of horses in Portugal, pp. 376-387. In DARABUS, G., NICHITA, I., GANTA, C.V. (Ed.) *Lucrari Stiintifice, Medicina Veterinara, Volumul XXXVII, Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara a Banatului, Timisoara, România*, 1001 pp.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; FAZENDEIRO, M.I.; AFONSO-ROQUE, M.M. (2004) - Estudo morfológico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 1. Género *Cyathostomum* s.l. *Acta Parasitológica Port.*, 11 (1-2): 23-32.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; FAZENDEIRO, M.I.; AFONSO-ROQUE, M.M. (2005) Estudo do padrão sazonal dos ovos e larvas de estrongilídeos do cavalo numa exploração do Ribatejo, através da contaminação de parcelas experimentais em pastagens espontâneas de sequeiro. IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005. *Acta Parasitológica Port.*, pp. 285-286.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (1993), Relatório da Missão de estudo ao "Department of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow", Glasgow, 18-31 de Outubro de 1993. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2000). Disciplina de parasitologia: notas de apoio às aulas práticas. (pp. 58-88). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2003a). Estrongilídeos dos equídeos – importância em produção equina, sistemática, taxonomia e biologia (I) *Medicina veterinária (revista da AEFMV)*, 57, 16-36.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2006) – Estrongilidose dos Equídeos – Biologia, Patologia, Epidemiologia e Controlo, p. 277-326. In Tovar, J. & Reina, D. (Eds.): "In Memoriam Prof. Ignacio Navarrete López-Cózar", Facultad de Veterinaria, Cáceres, España.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2007) - Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrongilidose equina no Ribatejo, *RPCV* 102: 233-247

MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; FAZENDEIRO, M.I.; AFONSO-ROQUE, M.M. (2007) - Estudo morfológico das larvas infectantes (L3) dos strongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 2. Géneros *Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *Craterostomum*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus*, *Strongylus* e *Trichostrongylus*. *Acta Parasitológica Port.* 14 (1-2): 23-34

MADEIRA DE CARVALHO, L.M., GILLESPIE, A.T., SERRA, P.M., BERNARDO, F.A., FARRIM, A.P., FAZENDEIRO, I. (2007) - Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da strongilidose equina no Ribatejo. *Rev. Port. Cien. Vet.*, 102, (563-564): 233-247.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; FAZENDEIRO, M.I.; AFONSO-ROQUE, M.M. (2008). Estudo morfológico das larvas infectantes (L3) dos strongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 3. Conclusões, perspectivas futuras e proposta de chave de identificação de alguns nemátodes gastrintestinais mais comuns dos equídeos em Portugal. *Acta Parasitológica Port.*, 15 (2): 59 - 65.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2009) Epidemiologia de la strongilidosis en équidos en Portugal – especial referencia a la ciatostomiosis. In Meana, A. & Vazquez, R. (Eds.) *Monografía Equinus: Control Antiparasitario en caballos*, Espanha.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. , DURÃO, J.F.C. & PELETEIRO, M.I (1990) – Alguns aspectos anátomo-patológicos da infecção por *strongylus vulgaris* (Looss, 1900) Raillet & Henry, 1909, em cavalos de Portugal . I Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Patologia Animal. 16 de Novembro de 1990. LNIV. Lisboa . (Resumo).

MAIR, T.S. (1994). Outbreak of larval cyathostomiasis among a group of yearling and twoyear-old horses. *Veterinary Record*, 135 (25), 598-600

MATTHEWS, J.B., HODGKINSON, J.E., DOWDALL, S.M. & PROUDMAN, C.J. (2004). Recent developments in research into the Cyathostominae and Anoplocephala perfoliata. *Veterinary Research*, 35 (4): 371-81.

MEDICA, D.L. & SUKHDEO, M.V. (1997). Role of lipids in the transmission of the infective stage (L3) of *Strongylus vulgaris* (Nematoda: Strongylida). *The Journal of Parasitology*, 83 (5): 775-779.

MEDICA, D.L. HANAWAY, M.J., RALSTON, S.L. & SUKHDEO, M.V.K. (1996). Grazing behavior of horses on pasture: Predisposition to strongylid infection? *Journal of equine veterinary science*. 16 (10): 421-427.

MFITILODZE, M.W. & HUTCHINSON, G.W. (1987) – Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Vet. Parasitol.*, 23: 121-133.

MFITILODZE, M.W. & HUTCHINSON, G.W. (1988) – Development of free-living stages of equine strongyles in faeces on pasture in a tropical environment. *Vet. Parasitol.*, 26: 285-296.

- MONAHAN, C.M, (2000) – Anthelmintic Control Strategies for Horses. In BOWMAN, D.D. (Ed.) Companion and Exotic Animal Parasitology, Publisher: International Veterinary Information Service.
- MONTEIRO, J. (1985) – O cavalo lusitano – Contributo para o seu estudo . Boletim Pecuário: 49-205.
- MUGHINI GRAS, L. et al. (2011) Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: Epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite: self-regulation, Veterinary Parasitology 179: 167–174
- MURRAY, M.J. (2003). Treatment of equine gastrointestinal parasites. 8th Congress on Equine Medicine and Surgery, Ithaca, USA. (pp. 1-6). Acedido em Março, 17, 2011, disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/Geneva/2003/Murray3/chapter_frm.asp?LA=1
- NIELSEN, M. K., B. FRITZEN, et al. (2010). "Practical aspects of equine parasite control: a review based upon a workshop discussion consensus." Equine Vet J 42(5): 460-468.
- NIELSEN, M.K., HAANING, N. & OLSEN, S.N. (2006a). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. Veterinary Parasitology, 135 (3-4): 333-335.
- NIELSEN, M. K., D. S. PETERSON, et al. (2008). "Detection and semi-quantification of Strongylus vulgaris DNA in equine faeces by real-time quantitative PCR." Int J Parasitol 38(3-4): 443-453.
- NIELSEN, M. K., R. M. KAPLAN, et al. (2007). "Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance." Vet J 174(1): 23-32.
- OGBOURNE, C. P. (1976). "The prevalence, relative abundance and site distribution of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain." J Helminthol 50(3): 203-214.
- OGBOURNE, C.P. & DUNCAN, J.L. (1985) – Strongylus vulgaris in the horse: its biology and veterinary importance. 2nd Ed. Commonwealth Agricultural Bureaux . Commonwealth Institute of Parasitology , Miscellaneous publication , N°9: 68.
- OGBOURNE, C.P. (1972) – Observations on the free-living stages of strongylid nematodes of the horse. Parasitology, 64: 461-477.
- OGBOURNE, C.P. (1978) – Pathogenesis of Cyathostome (Trichonema) infections of the horse. A review. Commonwealth Agricultural Bureaux, Commonwealth Institute of Parasitology, Miscellaneous publication, N°5: 25.
- OOM, M. M. (1992) - O Cavalo Lusitano. Uma Raça em Recuperação. Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa.

- OSTERMAN LIND, E., HÖGLUND, J., LJUNGSTRÖM, B.L., NILSSON, O. & UGGLA, A. (1999). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*, 31 (1): 68-72.
- PAYNE, P.A., CARTER, G.R., (2007) Parasitic Diseases: Helminths, In: A Concise Guide to the Microbial and Parasitic Diseases of Horses, (Eds.). International Veterinary Information Service, Ithaca NY
- PEREIRA, J. R. and S. S. VIANNA (2006). "Gastrointestinal parasitic worms in equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil." *Vet Parasitol* 140(3-4): 289-295.
- PINTO, P. A. and COELHO, J. C. (1990) Ovinos - Um modelo de simulação por computador de um sistema de produção de ovinos de carne em pastagens semeadas de sequeiro em clima Mediterrâneo. *Pastagens e Forragens* 11(1):57-68.
- QUINELATO, S., M. C. COUTO, et al. (2008). "The ecology of horse cyathostomin infective larvae (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil." *Vet Parasitol* 153(1-2): 100-107.
- REINEMEYER, C.R. & HERD, R.P. (1986) – Anatomic distribution of encysted cyathostome larvae in the horse. *Am. J. Vet., Res.*, 47: 510-513.
- REINEMEYER, C.R. (1986a) – Small strongyles. Recent advances. "In" HERD, R. P. (Editor) – *The Veterinary Clinics of North America . Equine Practice, Parasitology*, 2: 281-312 . W.B. Saunders Company, Philadelphia , USA.
- REYNEMEYER, C. R. (2008) Current concerns about control programs in temperate Climates *Veterinary Parasitology* 85: 163–172
- REYNEMEYER, C. R. and M. K. NIELSEN (2009). "Parasitism and colic." *Vet Clin North Am Equine Pract* 25(2): 233-245.
- RUPASINGHE, D. & OGBOURNE, C.P. (1978) – Laboratory studies on the effect of temperature on the development of the free-living stages of some strongylid nematodes of the horse . *Z. Parasitenkd.*, 55: 249-253.
- SHAPIRO, L. S., SHAPIRO, L. (2004), *Pathology and parasitology for veterinary technicians*, Volume 1, Cengage Learning.
- SLOCOMBE, J.O., VALENZUELA, J., & LAKE, M.C (1987). Epidemiology of strongyles in ponies in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51 (4): 470-474.
- SNEDDON, J. C.; VAN DER WALT, J. G. & MITCHELL, G. (1991) - Water homeostasis in desert dwelling horses, *Journal of Applied Physiology*, Vol 71: 112-117
- SOULSBY, E.J.L. (1965) – *Textbook of Veterinary Clinical Parasitology – Vol. I. Helminths*. 1st Bd., Blackwell Scientific Publications, Oxford: 1120.

SOULSBY, E.J.L. (1986) – Helminths, Anthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 4th Ed., Baillière Tindall, London, G. B.: 809.

SOULSBY, L. (2007). "New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: the role of refugia." Vet J 174(1): 6-7.

STANCAMPIANO, L., MUGHINI GRAS, L. & POGLAYEN, G. (2010). Spatial niche competition among helminth parasites in horse's large intestine. Veterinary Parasitology, 170 (1-2): 88-95.

TARAZONA VILLAS, J.M. (1999)Estrongilidosis causadas por grandes y pequeños estrongilos. In M. CORDERO DEL CAMPILLO, F.A. ROJO VASQUÉZ, A.R. MARTINEZ FERNÁNDEZ, C. SÁNCHEZ ACEDO, S. HERNÁNDEZ RODRIGUÉZ, I. NAVARRETE LÓPEZ COZAR, P DÍEZ BAÑOS, H. QUIROZ ROMERO & M. CARVALHO VARELA, Parasitología Veterinária. (pp. 545-560). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.

TAVASSOLI, M., B. DALIR-NAGHADEH, et al. (2010). "Prevalence of gastrointestinal parasites in working horses." Pol J Vet Sci 13(2): 319-324.

THIENPONT, D. et al. (1986). Diagnóstico de las helminthiasis por medio del examen coprológico. 2ª Ed., Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium.

TOLLIVER, S. C., E. T. LYONS, et al. (1987). "Prevalence of internal parasites in horses in critical tests of activity of parasiticides over a 28-year period (1956-1983) in Kentucky." Vet Parasitol 23(3-4): 273-284.

TRONCY, P.M. (1980) – Considérations théoriques et pratiques sur les trichonèmes et les trichonémoses des équides. Point Vét., 10: 73-78.

URQUHART, G.M. et al. (1987) – Veterinary Parasitology. Longman Scientific and Technical, Longman Group, U.K. Ltd., p. 286. Volume 85, Issues 2-3, p 123-136

VARADY, M., KONIGOVA, A., CORBA, J. (2004) A field study to evaluate the efficacy of fenbendazole on 9 stud farms. Veterinarni Medicina - UZPI, 49 (2): 42-46.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. (2006). "Molecular diagnosis of anthelmintic resistance." Vet Parasitol 136(2): 99-107.

ZAJAC, A.M., CONBOY, G.A., (2006), Veterinary clinical Parasitology, 7ª edição, Blackwell Publishing.

Anexos 1 - Lista dos equídeos presentes no estudo discriminados por raça/espécie

Núcleo Alter

Nome	Número	Idade	% Consanguinidade
Aljaca	268	6	8.9
Barroca	285	5	4.5
Beringela	286	5	14.7
Birra	287	5	2.3
Borboleta	302	5	11.2
Horca	904	22	15.4
Jáxila	946	20	2.3
Lexa	965	19	2.6
Liamba	975	19	3.1
Líbia	976	19	13.3
Luxuosa	964	19	3.4
Miba	990	18	7.4
Nahorta	8	17	21.4
Negaça	7	17	8.8
Ohara	17	16	7.9
Ohidra	24	16	5.1
Ohufa	32	16	27.1
Plájila	57	15	7.6
Queijoca	69	14	0
Quejarda	71	14	0
Quejarreta	68	14	0
Quejóia	67	14	0
Quejudia	79	14	0
Quejunça	70	14	0
Quinjara	76	14	6.7
Ralaça	104	13	8.7
Ralé	100	13	6.9
Ruela	90	13	2.5
Tamanca	154	11	6.2
Tiúba	138	11	0
Ujóia	165	10	5.9
Unitiva	174	10	8
Urtiga	162	10	16.8
Uxepa	157	10	15.1
Veija-lá	194	9	5.9
Vibração	209	9	10.7
Viheira	207	9	23.3
Vihela	197	9	15
Vihola	200	9	18.5
Xajema	219	8	6.8
Xehada	228	8	3.5
Xelna	230	8	1.9
Xihorpa	223	8	15.5
Xinela	231	8	7.4
Zambézia	245	7	9.5
Zéjica	252	7	7.4

Núcleo Sorraia

Nome	Número	Idade	%Consanguinidade
Barroca	776	28	35.35
Catita	307	4	39.72
Ibaga	861	21	44.62
Jabeta	898	20	41.17
Loamba	919	19	40.34
Pimba	990	15	55.65
Tramóia	141	11	50.42
Viajada	186	9	26.33
Viajata	204	9	27.48
Xeara	222	8	27.48
Xiantina	226	8	27.34
Xoana	221	8	26.33
Zoamba	251	8	27.87
Zuapa	250	7	26.93

Núcleo Przewalski

Nome	Sexo	Idade
Brazão	M	5
Desejado	M	4
Susannah	F	10

Anexo 2 – Método de flutuação de Willis (adaptado de FROUCO, G. D. S. (2011))

1. Atribuir a cada amostra um número.
2. Identificar os copos de plástico e os tubos de ensaio.
3. Homogeneizar as amostras.
4. Colocar, com a ajuda de uma espátula, cerca de 2 gramas de fezes em cada copo e adicionar a solução saturada de sacarose.
5. Emulsionar a mistura.
6. Passar o conteúdo de cada copo para o correspondente tubo de ensaio, através de um passador até obter um menisco convexo no topo do tubo de ensaio (lavar o passador a cada utilização para evitar contaminações cruzadas das amostras).
7. Cobrir cada tubo com as lamelas.
8. Esperar 15 a 20 minutos.
9. Cobrir as lâminas previamente identificadas com as lamelas obtidas anteriormente.
10. Observar ao microscópio

Anexo 3 – Método de sedimentação natural (adaptado de FROUCO, G. D. S. (2011))

1. Utilizar o sedimento do método de Willis (ver Anexo 1).
2. Deixar sedimentar o conteúdo dos tubos de ensaio do método de Willis e retirar o sobrenadante.
3. Se necessário proceder à lavagem do sedimento.
4. Adicionar algumas gotas de corante azul-de-metileno aos tubos de ensaio.
5. Com ajuda de pipetas Pasteur (uma para cada tubo) colocar uma gota da solução em cada uma das lâminas previamente identificadas.
6. Cobrir com lamelas e observar ao microscópio.

Anexo 4 – Método de MacMaster (adaptado de FROUCO, G. D. S. (2011))

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico.
3. Diluir 2 gramas de fezes de cada amostra em 28 ml de solução saturada (medidos em proveta graduada).
4. Filtrar, homogeneizar e introduzir a suspensão nas câmaras de MacMaster.
5. Deixar as lâminas repousar alguns minutos.
6. Observar ao microscópio óptico, focando a camada superior onde se encontram focadas as linhas da grade da câmara.
7. Proceder à contagem na totalidade das células da Câmara de MacMaster e multiplicar o número obtido por 50 de modo a obter o número de ovos por grama de fezes (OPG).

Anexo 5 – Coproculturas (adaptado de FROUCO, G. D. S. (2011))

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico com uma caneta de acetato (número da amostra, data da colheita e dia a retirar a coprocultura da estufa).
3. Colocar uma quantidade de fezes previamente pesada (cerca de 50/ 60 gramas) registrar o peso correspondente.
4. Deixar as fezes não compactas e realizar um orifício no centro das mesmas com auxílio de uma vareta.
5. Cobrir os copos das coproculturas com papel de alumínio e perfurar o mesmo com uma pinça.
6. Colocar os copos de coprocultura num tabuleiro com água no fundo do mesmo.
7. Colocar na estufa a 26 °C.
8. Após 14 dias retirar as coproculturas da estufa.
9. Retirar o papel de alumínio de todos os copos e encher os mesmos com água até ao seu bordo superior.
10. Inverter os copos sobre placas de Petri e preencher o espaço restante das placas com água.
11. Deixar os copos repousar durante um período de 24 horas.
12. Colocar a suspensão remanescente nas caixas de Petri em tubos de ensaio previamente identificados.
14. Armazenar os tubos de ensaio cobertos com Parafilm® no frigorífico para posterior observação.

Anexo 6 – Identificação das L3

1. Larvas sem bainha_____	2
Larvas com bainha_____	3
2. Esófago radtiforme (com bulbo), presença de machos, fêmeas e ovos—	Nematóides
	de vida livre
Esófago filariforme, >1/3 do comprimento do corpo, cauda da larva —	Strongyloides
termina em forma de “v” pequeno	westeri
3. Cauda da bainha muito curta, 80 a 115 µm do ânus à extremidade posterior da bainha, não apresentando forma de chicote, com comprimento total médio de 738,1µm _____	Trichostrongylus axei
Cauda da bainha comprida (≥ 175 µm) e em forma de chicote _____	4
4. Larvas de tamanho médio com 6 a 9 células intestinais, com comprimentos totais médios de 773,3 a 886 µm _____	5
Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células intestinais, comprimentos totais médios de 730,7 a 991,7 µm _____	8
5. Larvas de tamanho médio com 8 células intestinais com organização e forma bem definidas, comprimentos totais médios de 773,3 a 886 µm —	6 (<i>Cyathostomum</i> , <i>sensu lato</i> tipos A, B, C e D)
Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células intestinais, comprimentos totais médios de 812 a 848 µm _____	7 (<i>Cyathostomum</i> , <i>sensu lato</i> tipos E, F, G e H)
6. Larvas de dimensão média com 8 células intestinais, em que as duas primeiras (triangulares ou rectangulares) formam uma fila dupla e as restantes seis (trapezoidais ou rectangulares) formam uma fila única, comprimento total médio de 811,9 µm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo A
Larvas de dimensão média com 8 células intestinais triangulares ou pentagonais arranjadas em fila dupla, comprimento total médio de 828,2 µm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo B

Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais, em que as quatro primeiras formam uma fila dupla (pentagonais, triangulares ou rectangulares) e as restantes quatro (trapezoidais) estão arrançadas em fila única, comprimento total médio de 847,8 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo C
Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais em fila única com forma trapezoidal ou triangular, comprimento total médio de 842,8 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo D
7. Larvas de pequena dimensão com 6 células intestinais triangulares e/ou trapezoidais, com arranjo diverso, em fila dupla ou única, <comprimento total médio deste grupo, 773,3 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo E
Larvas de média dimensão com 7 células intestinais triangulares e trapezoidais alongadas. Arranjo diverso, 2-4 células em fila dupla e as restantes em fila única ou arranjo misto. Comprimento total médio de 842,2 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo F
Larvas de média a grande dimensão com 8 células triangulares e/ou rectangulares (alongadas e estreitas), trapezoidais (porção distal), arranjo diverso, comprimento total médio de 847,8 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo G
Larvas de grande dimensão com 9 células intestinais triangulares alongadas, as primeiras 6 em filas dupla e as restantes em fila única, >comprimento total médio deste grupo, 886 μm _____	<i>Cyathostomum</i> spp. tipo H
8. Larvas com 12 células intestinais arrançadas em fila dupla (células com forma rectangular e pentagonal), ou 6-10 células emparelhadas e as restantes em fila única (trapezoidal e triangular), com comprimento total médio de 730,7 μm _____	<i>Gyalocephalus</i> <i>capitatus</i>
Larva com mais de 12 células intestinais _____	9
9. Larvas com 16 células intestinais _____	10
Larvas com mais de 16 células intestinais _____	12

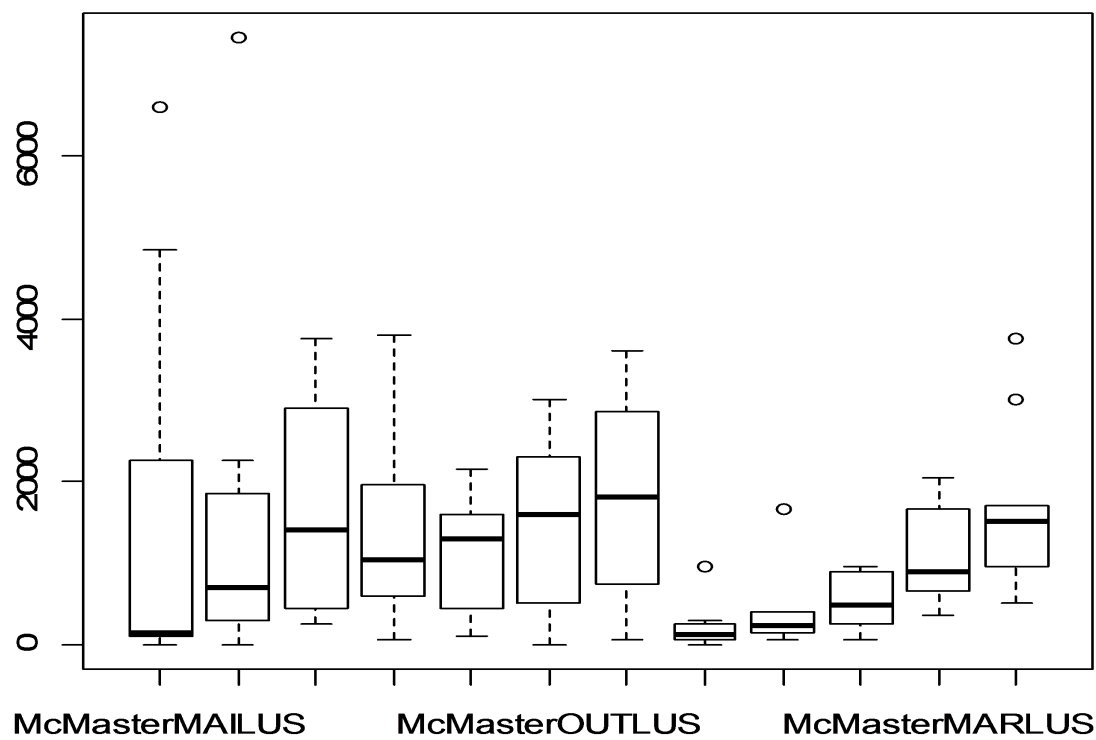
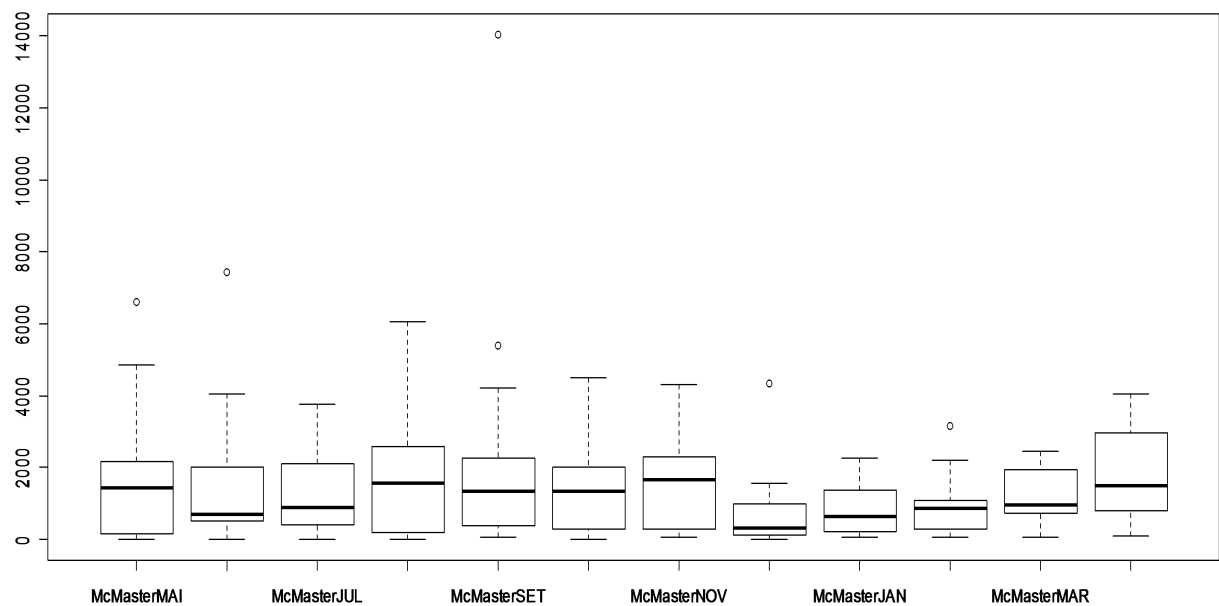
10. Larvas de dimensão média (comprimento médio de 785,7 µm e largura média de 27,6 µm), com células intestinais rectangulares e pentagonais, com uma proporção corpo da larva/ porção distal (cl/pd)= 2,1:1 _____	<i>Poteriostomum spp.</i>
Larvas de dimensão grande _____	11
11. Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 991,7 µm e largura média de 34,5 µm), com intestino longo (415 µm) e com células grandes, distintas, de forma triangular, por vezes pentagonais alongadas, proporção cl/pd=2,4:1 _____	<i>Oesophagodontus robustus</i>
Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 862,4 µm e largura de 29,2), com células rectangulares (células proximais, em fila dupla), pentagonais e triangulares (células distais, em posição intermédia ou com uma única célula terminal) proporção cl/pd=1,8:1 _____	<i>Craterostomum acuticaudatum</i>
Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 907 µm e largura média de 30,1 µm), com células proximais rectangulares alongadas e as restantes pentagonais, as duas células distais assimétricas, uma com metade do comprimento da outra mas com terminação ao mesmo nível, proporção cl/pd=4,1:1 _____	<i>Triodontophorus serratus</i>
Larvas de grande dimensão e finas (comprimento médio de 901 µm e largura média de 18,3 µm), células intestinais pouco diferenciadas, transição pouco distinta entre esófago e o intestino, cauda da larva com um lobo na extremidade, cauda da bainha curta, proporção cl/pd=4,1:1 —	<i>Strongylus equinus</i>
12. Larvas com 18 a 20 células intestinais _____	13
Larvas com mais de 20 células intestinais _____	14
13. Larvas de pequena a média dimensão, finas (comprimento médio de 788,5 µm e largura média de 22,5 µm), com células intestinais triangulares estreitas e alongadas, mal definidas, esófago curto, proporção cl/pd=2,2:1 _____	<i>Strongylus edentatus</i>

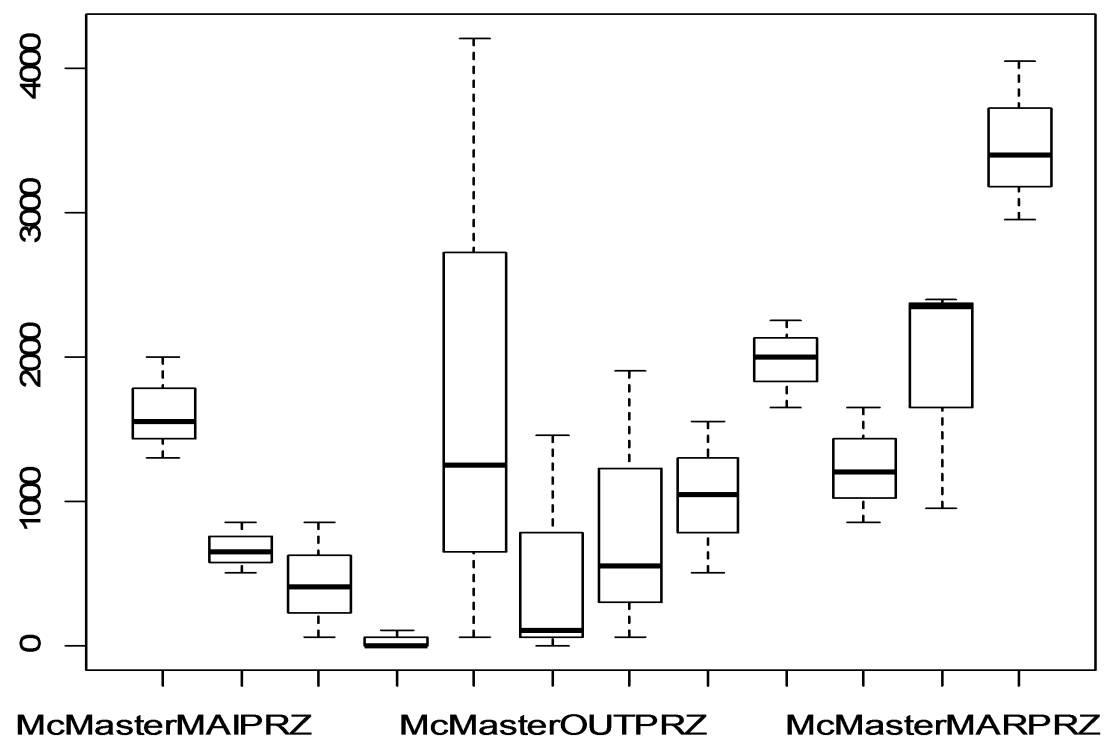
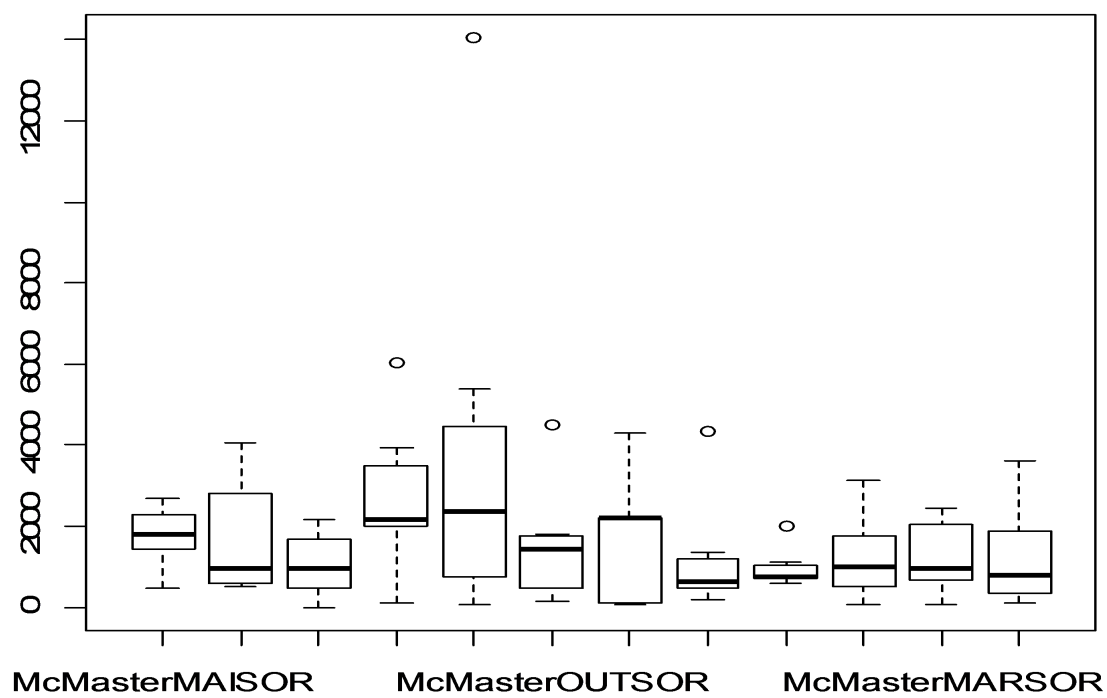
Larvas de média a grande dimensão, grossas (comprimento médio de 834,2 μm e largura média de 28,4 μm), com células intestinais pentagonais (mais frequentes), rectangulares e triangulares (células distais, justapostas ou em posição intermédia), esófago longo (cerca de 1/3 do comprimento do corpo da larva), proporção cl/pd=2,1:1 ————— *Triodontophorus spp.**

14. Larvas de grande dimensão e grossas (comprimento médio de 935,6 μm e largura média de 32,1 μm), com células intestinais pentagonais e triangulares, bem definidas e com coloração muito escura, esófago curto, proporção cl/pd=2,8:1 ————— *Strongylus vulgaris*

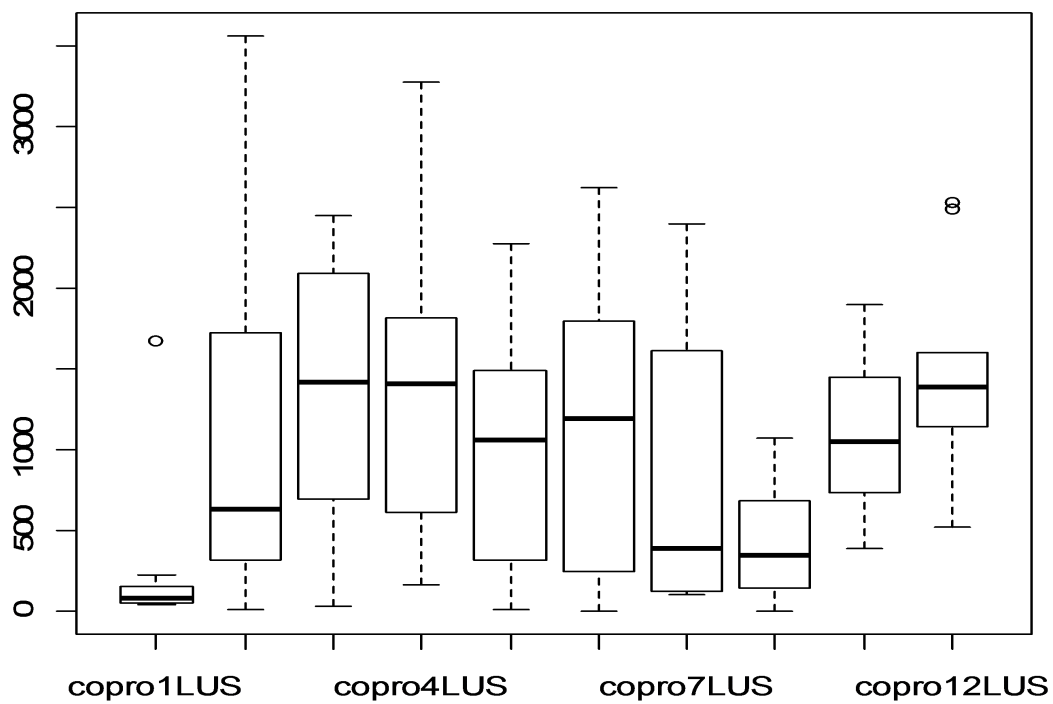
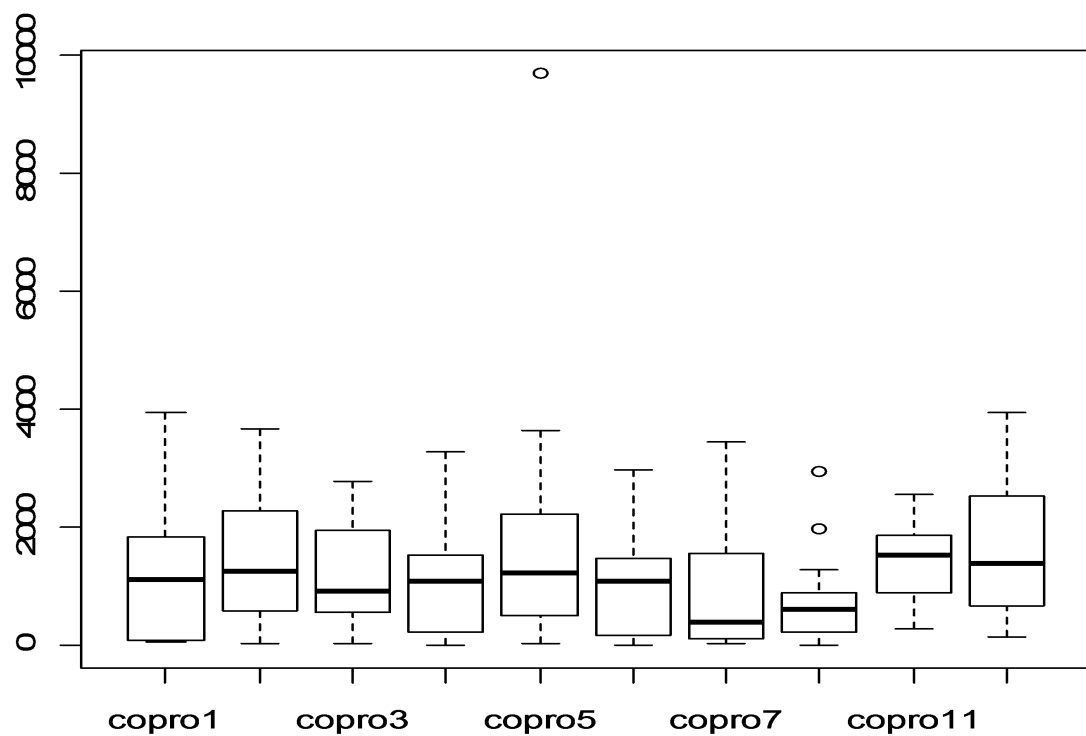
*Excepto *Triodontophorus serratus*

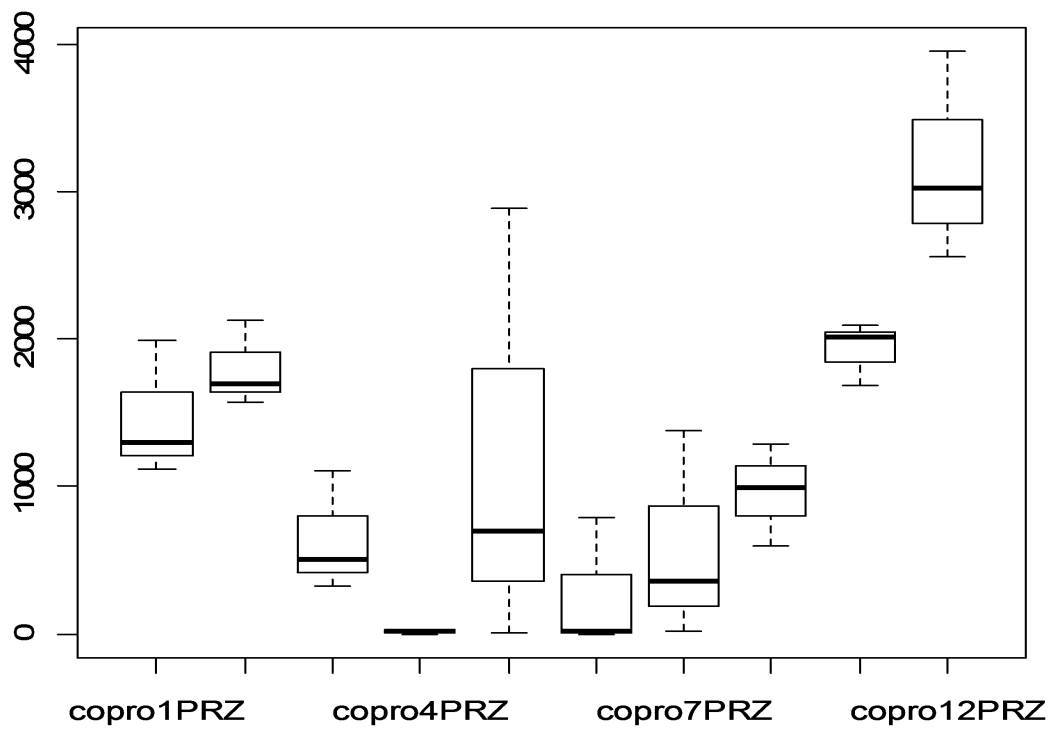
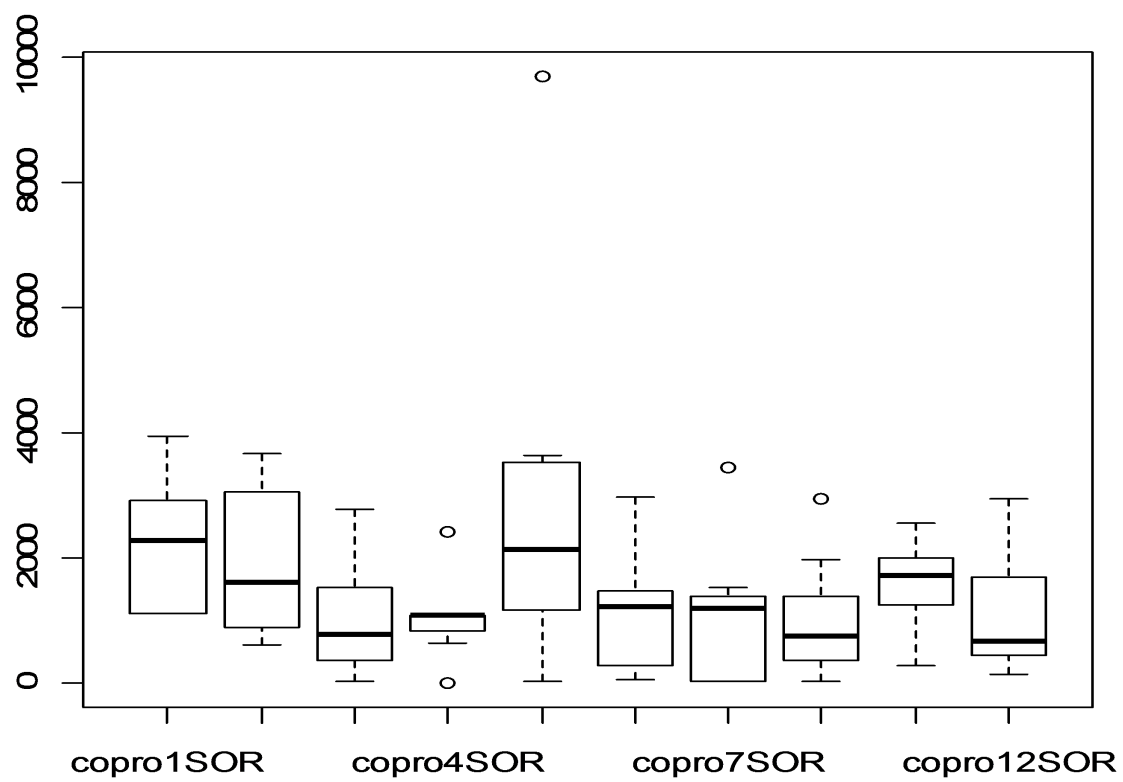
Anexos 7 - Boxplots das contagens pelo método de McMaster





Anexos 8 - Boxplots das contagens pelo Método de Coprocultura





Anexo 9 - Núcleo Alter

Coefficients:

	Estimate	Std Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	297.41403	215.53564	1.380	0.1703
coproAnoLUS	1.12472	0.10012	11.233	< 2e-16 ***
ErvaAnoLUS	-0.00208	0.06398	-0.033	0.9741
IdadeAnoLUS	-18.87251	9.28730	-2.032	0.0445 *
InbreedAnoLUS	25.81682	13.17291	1.960	0.0524

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 908.6 on 115 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.5386, Adjusted R-squared: 0.5226

F-statistic: 33.56 on 4 and 115 DF, p-value: < 2.2e-16

Tabela 1 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Lusitanas de Alter Real

```
kruskal.test(McMasterAnoLUS~coproAnoLUS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLUS by coproAnoLUS

Kruskal-Wallis chi-squared = 118.8068, df = 115, p-value = 0.3851

```
kruskal.test(McMasterAnoLUS~InbreedAnoLUS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLUS by InbreedAnoLUS

Kruskal-Wallis chi-squared = 49.6716, df = 35, p-value = 0.05129

```
kruskal.test(McMasterAnoLUS~ErvaAnoLUS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLUS by ErvaAnoLUS

Kruskal-Wallis chi-squared = 31.2885, df = 5, p-value = 8.216e-06

```
kruskal.test(McMasterAnoLUS~IdadeAnoLUS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLUS by IdadeAnoLUS

Kruskal-Wallis chi-squared = 16.8193, df = 16, p-value = 0.3974

```
kruskal.test(McMasterAnoLUS~MesLUS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLUS by MesLUS

Kruskal-Wallis chi-squared = 32.9401, df = 11, p-value = 0.0005381

Anexo 10 - Núcleo Przewalski

Coefficients:

	Estimate	Std Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	168.52876	295.35926	0.571	0.572
coproAnoPRZ	0.88036	0.13061	6.740	1.30e-07 ***
ErvaAnoPRZ	0.12635	0.09557	1.322	0.196
IdadeAnoPRZ	-8.91332	37.90359	-0.235	0.816

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 592.5 on 32 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.748, Adjusted R-squared: 0.7244

F-statistic: 31.66 on 3 and 32 DF, p-value: 1.068e-09

Tabela 2 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Cavalos de Przewalski

```
kruskal.test(McMasterAnoPRZ~coproAnoPRZ)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoPRZ by coproAnoPRZ

Kruskal-Wallis chi-squared = 34.9718, df = 33, p-value = 0.3746

```
kruskal.test(McMasterAnoPRZ~ErvaAnoPRZ)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoPRZ by ErvaAnoPRZ

Kruskal-Wallis chi-squared = 18.4162, df = 5, p-value = 0.002468

```
kruskal.test(McMasterAnoPRZ~IdadeAnoPRZ)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoPRZ by IdadeAnoPRZ

Kruskal-Wallis chi-squared = 1.1004, df = 2, p-value = 0.5768

```
kruskal.test(McMasterAnoPRZ~MesPRZ)
```

```
      Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data:  McMasterAnoPRZ by MesPRZ
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 22.7976, df = 11, p-value = 0.01887
```

Anexo 11 - Núcleo Sorraia

Coefficients:

	Estimate	Std Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	258.09673	422.64210	0.611	0.5432
coproAnoSOR	1.12362	0.07957	14.122	< 2e-16 ***
ErvaAnoSOR	-0.19597	0.08335	-2.351	0.0212 *
IdadeAnoSOR	-22.19636	21.54820	-1.030	0.3061
InbreedAnoSOR	11.42295	13.20370	0.865	0.3896

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1000 on 79 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.7397, Adjusted R-squared: 0.7265

F-statistic: 56.11 on 4 and 79 DF, p-value: < 2.2e-16

Tabela 3 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados da população de Cavalos do Sorraia

```
kruskal.test(McMasterAnoSOR~InbreedAnoSOR)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoSOR by InbreedAnoSOR

Kruskal-Wallis chi-squared = 12.5914, df = 11, p-value = 0.3209

```
kruskal.test(McMasterAnoSOR~coproAnoSOR)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoSOR by coproAnoSOR

Kruskal-Wallis chi-squared = 80.8529, df = 77, p-value = 0.3598


```
kruskal.test (McMasterAnoSOR~ErvaAnoSOR)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoSOR by ErvaAnoSOR

Kruskal-Wallis chi-squared = 2.651, df = 5, p-value = 0.7536

```
kruskal.test (McMasterAnoSOR~IdadeAnoSOR)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoSOR by IdadeAnoSOR

Kruskal-Wallis chi-squared = 7.8747, df = 9, p-value = 0.5468

```
kruskal.test (McMasterAnoSOR~MesSOR)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoSOR by MesSOR

Kruskal-Wallis chi-squared = 8.3545, df = 11, p-value = 0.6812

Anexo 12 - Conjunto dos Núcleos Alter e Sorraia

Coefficients:

	Estimate	Std Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	484.27146	172.92684	2.800	0.00561 **
coproAnoLS	1.11686	0.06118	18.256	< 2e-16 ***
ErvaAnoLS	-0.08830	0.05115	-1.726	0.08584
IdadeAnoLS	-14.85696	8.40322	-1.768	0.07859
InbreedAnoLS	1.34204	4.42955	0.303	0.76223

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 954.9 on 199 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.6517, Adjusted R-squared: 0.6447

F-statistic: 93.07 on 4 and 199 DF, p-value: < 2.2e-16

Tabela 4 - Tabela resumo da regressão linear múltipla aplicada aos dados do conjunto das populações de Lusitana de Alter Real e Cavallo do Sorraia

	McMasterAnoLS	IdadeAnoLS	ErvaAnoLS	InbreedAnoLS	coproAnoLS
McMasterAnoLS	1.00000	-0.03824	-0.1206	-0.21234	0.83441
IdadeAnoLS	-0.03824	1.00000	-0.0713	0.00593	0.03084
ErvaAnoLS	-0.12063	-0.07127	1.00000	-0.00946	-0.06575
InbreedAnoLS	-0.21234	0.00593	-0.0095	1.00000	0.20351
coproAnoLS	0.83441	0.03084	-0.0658	0.20351	1.00000

Tabela 5 - Matriz de correlações entre as 5 variáveis que fazem parte da análise conjunta das populações Lusitana de Alter Real e Cavallo do Sorraia

	IdadeAnoLS	ErvaAnoLS	InbreedAnoLS	coproAnoLS
McMasterAnoLS	< 2,2e-16	0,057	0,59	0,0013

Tabela 6 - Tabela dos valores de p resultantes do teste de significância à correlação dos diferentes preditores em relação à variável resposta

```
kruskal.test(McMasterAnoLS~coproAnoLS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLS by coproAnoLS

Kruskal-Wallis chi-squared = 200.3462, df = 187, p-value = 0.2393

```
kruskal.test(McMasterAnoLS~InbreedAnoLS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLS by InbreedAnoLS

Kruskal-Wallis chi-squared = 68.0705, df = 47, p-value = 0.02384

```
kruskal.test(McMasterAnoLS~ErvaAnoLS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLS by ErvaAnoLS

Kruskal-Wallis chi-squared = 21.0079, df = 5, p-value = 0.

```
kruskal.test(McMasterAnoLS~RaçaAnoLS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLS by RaçaAnoLS

Kruskal-Wallis chi-squared = 5.4965, df = 1, p-value = 0.01905

```
kruskal.test(McMasterAnoLS~MesLS)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: McMasterAnoLS by MESLS

Kruskal-Wallis chi-squared = 23.1388, df = 11, p-value = 0.01690